

당뇨병 환자의 이하선 타액내 단백질의 다형현상에 대한 연구

전남대학교 치과대학 구강진단·구강내과학 교실

안종모 · 윤창륙

목 차

- I. 서 론
 - II. 연구재료 및 방법
 - III. 연구성적
 - IV. 총괄 및 고찰
 - V. 결 론
- 참고문헌
영문초록

I. 서 론

타액은 많은 점액물질을 가지고 있어 윤활작용을 하고, 타액내에 존재하는 항세균 요소는 세균부착억제, 세균응집, 세균중식 및 대사억제 등의 다양한 작용을 함으로써 구강조직을 보호한다.⁴⁴⁾ 타액내에 포함되어 있는 혈액응고 인자는 혈액응고를 촉진시키며, 중탄산이온은 타액의 pH 감소를 방지하는 완충작용을 하며, 소화효소인 amylase는 녹말을 단당인 맥아당으로 분해한다.¹¹⁾ 그외 타액은 수분대사를 조절하는 기능등을 가지고 있어 구강건강을 유지하는데 필수요소로 간주된다. 이와같이 타액은 구강내에서 역할이 매우 다양하고 중요하여 많은 연구가 이루어졌으나 주로 기능적 측면에서의 연구였으며 최근 분자생물학의 발달과 더불어 타액 자체내 새로운 단백질들이 발견되고 이러한 단백질의 기능과 다른 질환과의 관계를 규명하고자 다양한 연구가 시도되고 있다.

1953년 Curby에 의하여 이하선 타액을 쉽게 채취할 수 있는 double chamber cup이 고안된 이후, 이하선 타액의 성분분석이 가능해졌고, 이하선 타액내 단백질 다형현상에 대한 연구가

이루어졌다. 타액단백질에 대한 연구는 타액단백질의 40%를 차지하고 있는 amylase에 관한 연구가 대부분이었으나, 1972년 Azen¹⁵⁾이 이하선 타액내에서 Amylase, Immunoglobulin A (IgA), Lysozyme과 Albumin등 지금까지 밝혀진 타액단백질과는 서로 다른 단백질을 발견하고 이 단백질을 오직 타액내에만 존재하기 때문에 Parotid basic protein(Pb)라 명명하였고, 이것은 인종에 따라 유전적 빈도에 차이가 있음을 알아냈다. 이후 분자생물학의 급속한 발달과 함께 이하선타액에서 새로운 단백질들이 계속 밝혀지게 되었다. Friedmann²⁵⁾은 이하선 타액을 전기영동 했을 때 음극쪽에 다형현상을 보이는 단백질을 발견하여 parotid acidic protein(Pa)이라 명명하였다. Azen등²⁰⁾은 alkaline slab polyacrylamide gel상에서 세가지 표현형으로 관찰되는 단백질이 있음을 발견하고 prolinerich protein(Pr)이라 하였는데 이 단백질 역시 인종에 따라 유전자 빈도에 차이가 있음을 보고하였다. 또한 Azen등¹⁷⁾은 double-band protein(Db)을 발견하고 이의 다형현상을, Ikemoto³⁰⁾등은 acid urea starch gel electrophoresis를 시행하여 Pa와 Pb사이에 존재하는 salivary parotid middle-band protein(Pm)의 다형현상을 관찰하였으며, Azen등^{18,19)}은 parotid size variant protein(Ps) 및 isoelectric focussing variant protein(PIF)의 다형현상을 보고하였다.

한편 Minaguchi등^{35,36)}은 Pr, Db, Pa, PIF가 하나의 복합유전 인자에 의하여 결정됨을 밝히고, Minaguchi등³⁷⁾이 발견한 황인종에서만 독특하게 존재하는 acidic SDS electrophoretic protein(As)과 함께 acid proline-rich proteins

(Acidic PRPs)라 명명하였다.

이처럼 타액 단백질의 다형현상이 존재함이 발견된 이래 인종간에 차이가 밝혀진 바^{14-20,30,31,32,37,40,42} Shintani 등^{35,40,41}은 필리핀인, 중국인, 말레이인, 인도인에서 Pr, Db, Pa, PIF의 유전자빈도를, 구, 김^{2,5,13}, 이¹²와 정¹³ 등은 한국인의 이하선 타액내 Pr, Db, Pa 유전자빈도에 대해서 보고하였다. 또한 타액내 단백질 다형현상은 인종별, 지역별 차이 뿐만 아니라 범의학적 친자감별이나 개인식별에 응용될 수 있음도 보고된 바 있다.^{31,32}

타액 단백질의 다형현상은 처음에는 범의학적 및 집단유전학적 차원에서 연구가 이루어졌으나 타액단백질과 구강질환 사이의 상관관계가 있다는 가능성이 제시된 이래 최근에는 구강질환과의 관계를 규명하는데 초점이 모아지고 있다. Hay^{27,28}는 수산화인회석(hydroxyapatite)이 타액단백질을 선택적으로 흡수하며 그 중 일부가 범람질을 구성하는 단백질과 매우 유사한 proline-rich protein이라는걸 보여주었다. Cowman 등^{23,24}은 타액으로부터 단백질을 제거한 후 구강내 연쇄상구균을 배양한 결과 여기서는 구강내 미생물이 성장할 수 없으며 타액단백질이 구강내 미생물의 질소성장배지(nitrogenous growth substrates)가 됨을 입증하였고, 또 다른 실험에서는 치아우식증이 없는 두 사람의 혼합타액에서 연쇄상구균의 성장을 억제하는 4개의 음전하를 띤 단백질이 존재함을 보고하였다. 그후 Gibbons 등²⁶은 acidic PRPs와 statherin이 apatite 표면에 Actinomyces viscosus 부착을 촉진시킨다고 보고하였다.

국내에서는 구등²이 타액단백질 Pr, Db, Pa, Pm의 다형현상과 DMFT 지수 및 PMA 지수의 상관관계를 연구하여 DMFT 지수는 Pm(+)형에서 보다 높게 나타나며, PMA 지수는 Pa(+)형과 Pm(+)형이 높게 나타난다고 하여 타액단백질의 다형현상과 구강질환과의 관계를 규명한 바 있다.

구강질환과 밀접한 관련이 있는 당뇨병환자의 타액에 대한 연구에 있어서 Tenovuo 등⁴⁵이 인슐린의존형 당뇨를 가진 환자의 전 타액을 분석한 결과 타액의 유출량, 단백질 함량 및 amylase 활성등은 정상인과 비교하여 큰 차이

가 없으나, salivary peroxidase는 인슐린의존형 당뇨병환자에 있어서 높게 나타난다는 것을 보고하였고, Sortino 등⁴³은 당뇨병을 가진 환자의 타액이 더 많은 타액단백을 가지고 있음을 보여주었으며, Campbell²²은 당뇨병환자의 타액이 비당뇨환자의 타액보다 더 많은 glucose를 함유하고 있다고 하였다. 이와같이 타액내에는 다형현상을 보이는 각종 단백질이 포함되어 있다는 사실은 밝혀졌으나 아직까지 각 단백질의 다형현상과 구강질환과의 관계는 정확히 규명되지 않고 연구단계에 있는 실정이고 특히, 구강질환과 밀접한 관계가 있는 것으로 추정되는 당뇨병환자의 타액에 대한 연구는 미미한 편이다.

따라서 본 연구에서는 가장 흔한 대사성 질환으로서 심장혈관계를 포함한 전신적 합병증 뿐만 아니라 구강주위의 지각이상, 설작열감, 치은염, 치주농양, 만성 치주질환, 구강캔디다증, 궤양등과 같은 많은 구강내 합병증^{10,15}도 유발하는 당뇨병을 가진 환자와 정상인의 이하선 타액내 단백질의 다형현상을 비교분석하여 서로 어떠한 차이를 보이며 당뇨병환자의 타액단백질이 구강질환과의 어떠한 상관관계가 있는지 조사하고자 본 연구를 시도하여 다소의 지견을 얻었기에 이에 보고하는 바이다.

II. 연구재료 및 방법

1. 연구재료

7세 부터 74세 까지의 광주에 거주하고 있는 건강한 한국인 남녀 94명으로부터 채취한 이하선 타액을 대조군으로, 조선대학교 치과대학 부속치과병원에 내원한 환자 및 본 병원 내과에 입원중인 당뇨병환자로서 타액채취전 1주일 이내의 공복시 혈당이 140mg/dl 이상인 환자 33명의 이하선타액을 실험군으로 하였으며 일반적으로 일주일 이내 2회 이상 공복시 혈당이 140mg/dl 이상으로 측정될 때 당뇨병으로 진단을 내리기 때문에 이 수치이상의 환자를 실험군으로 선택하였다.⁷ 당뇨병환자는 1주일 이내에 혈당을 조절하는 방식에 따라 구분한 결과 인슐린의존형 당뇨(insulin dependent diabetes mellitus : IDDM) 12명과 인슐린비의존형 당뇨(non-insulin dependent diabetes mellitus :

NIDDM) 21명으로 분류되었다.

2. 연구방법

가. 이하선 타액의 채취

이하선 타액은 Curby의 double chamber cup을 변형시킨 acrylic plastic capsule을 사용하여 자극시의 타액을 채취하였다.

자극제로서는 Vitamin C 원액 분말을 사용하였고 capsule 부착 후 적당량 구강내 투여하여 빨아먹도록 하였다. 자극하여 분비된 타액을 1.5ml 원심분리용 튜브에 저장한 후 각표본당 40 μ l씩 정량하여 같은 크기의 원심분리용 튜브에 취하였다. 정량된 이하선 타액은 -70°C 까지 급속냉동 시킨 후 동결 건조시켜 전기영동을 시행하기 전까지 -20°C 에서 보관하였다.

나. 전기영동

동결건조된 시료를 vertical electrophoresis unit(SE-410, Hoefer Scientric Instrument)를 사용하여 전기영동하기 전에 사용할 gel을 0.088M의 tris-borate buffer 32ml와 gelling agent 5.5g을 혼합, 50분 정도 섞은 후 여과시켜 나온 용액을 0.008M tris-borate buffer로 35ml을 만든 후 10% ammonium persulfate 5ml과 N,N,N',N'-tetramethylethylene diamine (TEMED) 80 μ l을 첨가하여 즉시 전기영동용 유리판 사이에 가한 후 시료를 가할수 있는 wall을 만들기 위해 comb을 위치시켜 실온에 7내지 8시간 동안 방치하였다.

Gel의 중합이 완성되면 comb을 제거하고 정량이 된 시료에 0.008M tris-borate 완충액 80 μ l, bromophenol blue 15 μ l, 25% glycerol 80 μ l를 넣고 녹인 후 각 wall에 시료를 20 μ l씩 가하여 250V로 6시간 45분 동안 전기영동 하였다.

전기영동이 끝나면 pH 3.3으로 맞춘 sodium acetate 완충액(2.72g/1000ml) 90ml와 3,3'-dimethoxybenzidine(DMB) 0.49g을 끊지 않을 정도로 약 50분 동안 가열한 다음 여과시킨 용액에 hydrogen peroxide 90 μ l와 NaOH 한 두 방울을 떨어뜨린 후 gel을 약 1시간 상온에 염색시켰다. 염색이 끝나면 Pa, Pr, Db 단백질은 gel상에 연회색의 band로 관찰이 되며, 이때 pH3.3으로 맞춘 sodium acetate 완충액으로

탈색시켜 Pa, Pr, Db, band의 표현형을 결정하였다.

III. 연구성적

각 집단의 이하선 타액을 alkaline slab polyacrylamide gel 상에서 전기영동하고 3,3'-DMB로 염색하여 나타난 gel 사진은 다음과 같다.(그림 1)

Pa는 상단에 하나의 band로 나타나는데 band가 나타난 경우를 Pa(+), 나타나지 않은 경우를 Pa(-)형이라 하였다. Pr은 4개의 분리된 band로 나타났는데 상층부터 나타난 band를 Pr1, Pr2, Pr3, Pr4라 명명하고¹⁹⁾ Pr1과 Pr3가 나타나는 경우를 표현형 Pr(1-1), Pr2와 Pr4가 나타나는 경우를 표현형 Pr(2-2), Pr1, Pr2, Pr3, Pr4 모두다 나타난 경우를 표현형 Pr(1-2)로 구분하였다. 그리고 Db band는 Pa band와 Pr1, Pr2 band 사이와 두 군의 Pr band 사이에서 나타나나 본 실험에서는 한 사람도 나타나지 않았다.

정상인군 94명과 당뇨병 환자군 33명등 총 127명의 타액을 전기영동한 결과를 상기 방법대로 표현형을 분류하고 Hardy-weinberg의 산출 방법에 따라 유전자 빈도를 구한 결과는 다음과 같다.(표 1, 2)

정상인의 표현형 분포는 Pa에서는 Pa(+), 형이 37명, Pa(-)형이 57명으로 관찰되었으며, 유전자 빈도는 $P_a^+ = 0.221$, $P_a^- = 0.779$ 이었다. Pr에서는 Pr(1-1)형 39명, Pr(1-2)형이 50명, Pr(2-2)이 5명으로 관찰되었으며, 이의 유전자 빈도는 $P_r^1 = 0.681$, $P_r^2 = 0.319$ 이었다. 당뇨병 환자군의 표현형 분포를 보면 Pa(+), 형이 18명, Pa(-)형이 15명으로 관찰되었으며, 유전자 빈도는 $P_a^+ = 0.326$, $P_a^- = 0.674$ 이었다. Pr에서는 Pr(1-1)형이 17명, Pr(1-2)형이 10명, Pr(2-2)형이 6명으로 관찰되었으며, 이의 유전자 빈도는 $P_r^1 = 0.667$, $P_r^2 = 0.333$ 이었다.

또한 인슐린의존형 당뇨에서 표현형 분포는 Pa(+), 형이 5명, Pa(-)형이 7명으로 관찰되었으며, Pr에서는 Pr(1-1)형이 8명, Pr(1-2)형이 1명, Pr(2-2)형이 3명으로 관찰되었다. 인슐린비의존형 당뇨에서 표현형 분포는 Pa

(+)형이 13명, Pa(-)형이 8명으로 관찰되었으며 Pr에서는 Pr(1-1)형이 9명, Pr(1-2)형이 9명, Pr(2-2)형이 3명으로 관찰되었다. 이

렇게 하여 얻은 결과로 chisquare test를 이용해 통계학적으로 검정한 결과는 다음과 같다. (표 1.2.3.4)

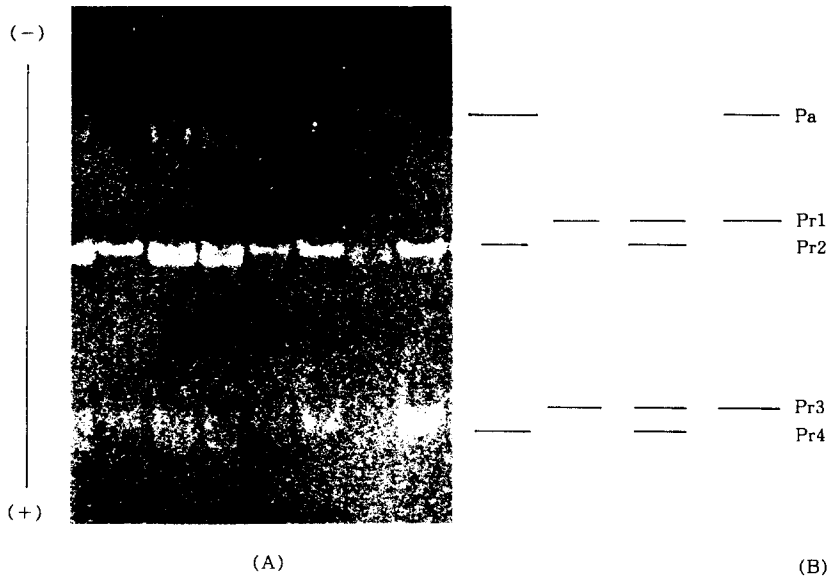


그림 1. Polyacrylamide gel 상에서 전기영동한 사진

(A) Pa, Pr, Db band를 관찰하기 위해 polyacrylamide gel을 이용하여 수직으로 전기영동한 결과의 사진.

(B) PAGE(polyacrylamide gel electrophoresis) 결과를 도식적으로 표현한 그림.

표 1. 정상인군과 당뇨병환자군 사이에 Pa 표현형 분포 및 유전자 빈도

표현형	집단(N)	정상인군(94)	당뇨환자군(33)
Pa(+)		37 Pa ⁺ =0.221	18 Pa ⁺ =0.326
Pa(-)		57 Pa ⁻ =0.779	15 Pa ⁻ =0.674

N : Number of individuals b : Gene frequency

Statistically significant(P>0.05) by X² test

표 2. 정상인군과 당뇨병환자군 사이에 Pr 표현형 분포 및 유전자 빈도

표현형	집단(N)	정상인군(94)	당뇨환자군(33)
Pr(1-1)		39 Pr ¹ =0.681	17 Pr ¹ =0.667
Pr(1-2)		50 Pr ² =0.319	10 Pr ² =0.333
Pr(2-2)		5	6

Statistically significant(P<0.05) by X² test

표 3. 인슐린의존형 당뇨와 인슐린비의존형 당뇨 사이의 Pa 표현형 분포

표현형 \ 집단(N)	인슐린의존형(12)	인슐린비의존형(21)
Pa(+)	5	13
Pa(-)	7	8

Statistically significant($P > 0.05$) by X^2 test

표 4. 인슐린의존형 당뇨와 인슐린비의존형 당뇨 사이의 Pr 표현형 분포

표현형 \ 집단(N)	인슐린의존형(12)	인슐린비의존형(21)
Pr(1-1)	8	9
Pr(1-2)	1	9
Pr(2-2)	3	3

Statistically significant($P > 0.05$) by X^2 test

IV. 총괄 및 고찰

타액내에는 구강미생물의 생태계 조절에 중요작용을 하는 많은 단백질이 포함되어 있으며, 구강건강을 유지하는데 필수요소이다. 이들 단백질은 치아를 보호하는 환경을 제공하는 중요한 생물학적 기능을 조절하기도 하며, 구강내에 세균의 부착을 변화시키는 활동을 한다.²⁹⁾

타액단백질의 기능은 여러 학자들에 의하여 연구되었는데, Hay^{27,28)}는 수산화인회석(hydroxyapatite)이 타액단백질을 선택적으로 흡수하는데 그중 일부는 proline-rich protein으로서 화학적으로 범랑단백과 유사하며, 수산화인회석과 친화성이 있고, 획득성 범랑질피막(acquired enamel pellicle)을 형성시킨다고 하였다. Gibbons²⁶⁾은 acidic PRPs와 statherin이 apatite표면에 Actinomyces Viscosus 부착을 촉진시킨다고 하였으며, Cowman²⁴⁾은 타액단백질이 S.mutans와 S.sanguis의 질소성장배지(nitrogenous growth substrate)로서 작용한다는 것을 밝혔다. Tenevuo⁴⁴⁾은 2-6개월 사이의 전치열기 영아 20명, 1-3.8세 사이의 치열기 유아 16명 그리고 19-20세 사이의 성인 50명을 대상으로 구강질환의 존재 및 심한 정도와 타

액내 다양한 항세균 요소의 농도와의 관련여부를 알기 위하여 타액내 lysozyme, peroxidase, hypothiocyanite, lactoferrin, lactoperoxidase, thiocyanite, immunoglobulin과 같은 항세균요소를 분석한 결과 치아우식증과 salivary peroxidase가 관계가 있음을 발견하였다.

Mandel³⁴⁾은 치아우식 활성균 및 비활성균, 치석을 심하게 가지고 있는 사람과 가지고 있지 않은 사람, Sjögren's syndrome을 가진환자, 구강건조증 환자, 재발성 이하선염을 가진 환자의 타액분비물에서 acidic proline-rich proteins(APRP)을 면역학적으로 정량분석하였으나 만성 재발성 이하선염을 가진 환자에서 역가가 높은 것을 제외하고는 의미가 없음을 보고하였다. 치아우식증과 타액단백의 관계에 대하여 Anderson¹⁴⁾은 치아우식이 심한 해군사병집단과 치아우식이 없는 해군사병집단에서 Pr, Pa, Db, Ps, Pm, Pb등 타액단백질 표현형 분포를 조사하여 비교하였으나, Pa(+)형이 치아우식증이 심한 개체군에서 다소 많은 것 외 통계적으로 유의성이 없음을 보고하였다. 국내 연구로는 구와 김¹¹⁾이 단백질 Pr, Db, Pa, Pm의 다형 현상과 DMFT 지수 및 PMA 지수와의 상관관계를 연구하여, 타액 단백질 다형 현상과 구강질환과의 연관성에 대하여 연구한 바,

parotid acidic protein은 PMA 지수에서 유의할 만한 차이를 보였고, middle band protein은 DMFT 지수 및 PMA 지수에서 모두 유의할 만한 차이를 보였다.

Proline-rich protein(PRP)은 교원질과 비슷하고 치아법랑단백질과도 매우 유사하며 proline, glycin, glutamine과 asparagine을 많이 함유하기 때문에 proline-rich protein이라 불렀다. 이 단백질은 사람의 타액선 중 이하선과 악하선의 타액내에서 많이 나타나나 다른 연구에 의하면 소화관과 궤장에서 발견되는 것으로, 사람의 타액에는 20개의 PRP가 존재하는데 이들은 acidic PRP(APRP), basic PRP(BPRP), glycosylated PRP(GPRP)로 분류되며, 이중 acidic PRP로는 Pr(proline-rich protein), Pa(salivary acidic protein), Db(double-band protein) PIF(isoelectric focusing variant proteins), As(SDS electrophoretic variant protein)가 있으며³⁵⁾, 이러한 APRP는 calcium과 강하게 결합하여 타액의 Ca^{++} 농도유지에 기여하며, 수산화인회석 형성을 억제하기도 하고, calcium과 다른 무기질과 강하게 결합하는 외에 dental pellicle 형성에도 관여하는 역할을 하는 것으로 알려졌다.^{21,39)}

그리고 Azen¹⁶⁾은 acidic PRP중 Db, Pa, Pr protein은 유전적으로 밀접한 관계가 있고, 아미노산의 조성등 생화학적 특성이 유사하다는 걸 밝혔는데, Pa는 Pr, Db와 마찬가지로 proline을 많이 함유하고 있기 때문에 이들 proline을 많이 함유하고 있는 단백질들 사이의 연관관계에 대하여 관심이 모아졌으며, 타액단백질의 Pr-Db-Pa system으로 적어도 Pr이 수산화인회석(hydroxyapatite)과 친화력이 높다는 것을 볼 때 치아표면의 remineralization과 회복시 어떤 역할을 하는 것으로 추측되며, 이때 단백질과 결합된 인이 수산화인회석의 형성에 기여하는 것으로 생각된다.

전 세계를 통해 가장 흔한 내분비 질환인 당뇨병은 다양한 원인에 의해 유발되며, 안과적 합병증, 신장합병증 및 심장혈관계를 포함한 전신적 합병증 뿐만아니라 구강내 설작열감, 치은염, 치주농양, 만성치주질환, 구강칸디다증, 궤양들과 같은 많은 구강내 합병증을 유발하기 때문에^{3,4,6,7,8,10)} 당뇨병환자의 타액이 구강질환에

어떠한 영향을 미치는지 연구가 이루어졌다.

Nicholas³⁸⁾은 많은 논란이 되고 있는 당뇨병과 치주 질환과의 관계에 있어서 당뇨병이 치주질환에 어떤 영향을 미치는가를 분석하여 통계적으로 유의성을 발견하지 못했지만, Tenovuo⁴⁵⁾은 당뇨병이 사람타액의 유출량과 구성에 미치는 영향에 대하여 정상인과 비교할 때 의미있는 차이는 없었으나 인슐린의존형 당뇨병환자에 있어서 salivary peroxidase가 높게 나타난다는 것을 보여 주었다. 또한, Campbell²⁾은 당뇨병환자와 비당뇨병환자의 타액내 glucose함량을 분석한 결과, 당뇨병환자에서 의미있는 glucose양을 규명했으며, Sortino⁴³⁾은 치아우식증을 가지고 있는 25명의 당뇨병환자와 21명의 비당뇨병 환자에 있어서 타액단백을 비교 연구하였는데, 유의성은 없었으나 타액단백이 당뇨병환자에 있어서 더 높게 나타난다고 보고한 바 있다.

이와같이 타액단백질과 구강질환과는 많은 관계가 있을 것으로 추정되고 있으나 아직까지 명확히 규명되고 있지 못한 바 본 연구에서는 구강내 많은 합병증을 유발하는 당뇨병 환자의 타액을 채취하여 단백질의 다형현상을 정상인과 비교한 결과 Pa(+)형과 Pr(1-1) 및 Pr(2-2)형이 당뇨병 환자군에서 많았으며 Pr 표현형 분포에 있어서 통계적으로 유의성을 나타냈다($P < 0.05$). (표 1, 2) 국내외 연구를 종합해 볼 때 정상인에서는 Pa(-)형이 많으나 치아우식을 가진 사람에서는 Pa(+)형이 많고 Pa(+)형에서 PMA지수가 높다는 사실은 Pa가 구강질환과 상관관계가 높은 단백질로 시사되며 본 연구결과에서도 당뇨병환자군에서 Pa(+)형이 많은 것은 주목 할만하다 하겠다.

Salivary acidic protein(Pa)은 1975년 Friedman²⁵⁾에 의하여 처음 발견되었는데 이것의 유전자 빈도는 백인에 있어서 $Pa^+ = 0.214$, $Pa^- = 0.786$, 흑인에 있어서 $Pa^+ = 0.136$, $Pa^- = 0.864$ 로, 1976년 Ikemoto³¹⁾은 일본인을 대상으로 조사한 결과 $Pa^+ = 0.212$, $Pa^- = 0.788$ 로 1989년 Shintani³⁹⁾은 필리핀인, 중국인, 말레이인, 인도인의 Pa 유전자 빈도를 조사하여 필리핀인에 있어서 $Pa^+ = 0.28$, $Pa^- = 0.72$, 중국인에 있어서 $Pa^+ = 0.21$, $Pa^- = 0.79$, 말레이인에 있어서 $Pa^+ = 0.23$, $Pa^- = 0.77$, 인도인에 있

어서 $Pa^+ = 0.16$, $Pa^- = 0.84$ 임을 보고하였고, 한국인을 대상으로한 연구는 1989년 이¹²⁾의 연구에서 $Pa^+ = 0.222$, $Pa^- = 0.778$ 로, 1990년 김¹⁶⁾의 연구에서 $Pa^+ = 0.240$, $Pa^- = 0.760$ 임이 보고되었다.

본 연구에서는 정상인군이 $Pa^+ = 0.221$, $Pa^- = 0.779$, 당뇨병자군이 $Pa^+ = 0.3216$, $Pa^- = 0.674$ 로 나타나, 정상인군의 $Pa^+ = 0.221$ 는 일본인 및 중국인과 말레이인 사이이고 이¹²⁾와 김¹⁶⁾의 연구보다는 다소 낮게 나타났으며, 당뇨병자군의 $Pa^+ = 0.326$ 은 정상인군뿐만 아니라 국내의 다른 결과와 비교하여도 높게 나타났다.

Proline-rich protein(Pr)의 유전자 빈도는 1973년 Azen등¹⁹⁾에 의하여 Pr의 다형현상이 발견된 후 보고되었는데 백인에서 $Pr^1 = 0.73$, $Pr^2 = 0.27$, 흑인에서 $Pr^1 = 0.87$, $Pr^2 = 0.20$, 중국계 미국인에서는 $Pr^1 = 0.84$, $Pr^2 = 0.16$ 으로 보고되었고, 1979년 Ikemoto등³¹⁾은 일본인을 대상으로 조사한 결과 $Pr^1 = 0.76$, $Pr^2 = 0.24$ 임을 보고하였다. 또한, 1989년 Shintani등³⁹⁾은 필리핀인, 중국인, 말레이인, 인도인의 Pr 유전자 빈도를 조사하여 필리핀인에 있어서 $Pr^1 = 0.746$, $Pr^2 = 0.254$, 중국인에 있어서 $Pr^1 = 0.81$, $Pr^2 = 0.19$ 임을 보고하였고, 한국인을 대상으로한 연구는 1988년 구²⁾의 연구에서 $Pr^1 = 0.79$, $Pr^2 = 0.21$ 임이 보고된 이후, 1989년 이¹²⁾의 연구에서 $Pr^1 = 0.71$, $Pr^2 = 0.29$ 로 보고되었고, 1990년 김⁵⁾의 연구에서는 $Pr^1 = 0.688$, $Pr^2 = 0.312$ 로 보고되었다.

본 연구에서는 정상인군이 $Pr^1 = 0.681$, $Pr^2 = 0.319$, 당뇨병자군이 $Pr^1 = 0.667$, $Pr^2 = 0.333$ 으로 나타나, 정상인군의 $Pr^1 = 0.681$ 는 김⁵⁾의 연구와는 비슷하나 외국의 다른 결과와 비교하여 다소 낮게 나타났고, 당뇨병환자군에서 $Pr^1 = 0.667$ 는 정상인뿐만 아니라 국내의 다른 결과와 비교하여 다소 낮게 나타났다.

당뇨병은 인슐린의 상대적 또는 절대적 부족으로 혈당이 증가하는 질환으로 그 원인이 다양한 중후군이며^{7,8,9)}, 연령, 치료방법 등에 따라 여러가지로 분류하나, 본 연구에서는 인슐린 의존형 당뇨(insulin dependent diabetes-mellitus : IDDM)와 인슐린비의존형 당뇨(non-insulin dependent diabetes mellitus : NIDDM)로 구분한 결과^{6,9,33)}, 인슐린비의존형 당뇨에서

$Pa(+)$ 형과 $Pr(1-2)$ 형이 더 많음을 발견하였으나, 통계학적으로 유의성은 인정되지 않았다. (표 3,4)

지금까지의 여러 선학들의 연구와 본 실험결과를 종합해 볼 때 타액내 단백질과 여러구강질환과는 분명히 밀접한 관계가 있으며, 타액 단백질 중 proline-rich protein과 구강내 다양한 합병증을 유발시키는 전신질환인 당뇨병과는 어떤 관계가 있을 것으로 추정되나 본 실험결과만으로 이들 간의 관계는 정확히 나타나지 않았다. 또한 타액 단백질 다형현상과 각종 구강질환과의 관계는 현재 여러 선학들에 의하여 연구 진행단계라 할 수 있고, 당뇨병 환자와의 상관관계에 대해서는 아직까지 보고된 바 없어서 상호비교할 수 없었으며, 당뇨 자체도 당뇨병 기간, 혈중 당농도의 다양성, 전신적 합병증 정도에 따라 구강내 합병증이 다양하게 나타날 수 있기 때문에 이들 각각의 요소에 따른 유전자 빈도가 어떠한 차이를 보이는지 체계적인 연구가 요구되며, 표본의 수에 있어서도 광범위한 조사가 필요할 것으로 사료된다.

V. 결 론

7세 부터 74세 까지의 광주에 거주하고 있는 건강한 한국인 남녀 94명과 타액채취 전 일주일 이내의 공복시 혈당이 140mg/dl 이상인 33명의 당뇨병환자를 대상으로 각각 이하선 타액을 채취하여 동결건조시킨 타액을 alkaline slab polyacrylamide gel 상에서 전기 영동한 후, 이하선 타액 단백질 중 parotid acidic protein(pa), proline-rich protein(Pr), double-band protein(Db) 각각의 다형현상을 조사하고 이들 간의 차이를 비교분석한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. Parotid acidic protein(Pa)은 정상인군보다 당뇨병환자군에서 많은 경향을 보였으나 유의한 차이는 없었다.
2. Proline-rich protein(Pr)표현형의 경우 정상인에서 $Pr(1-2)$ 형이, 당뇨병환자군에서는 $Pr(1-1)$ 및 $Pr(2-2)$ 형이 많은 경향을 보였으며 유의한 차이를 보였다. ($P < 0.05$)
3. 인슐린 의존형 당뇨보다 인슐린 비의존형

당뇨에서 parotid acidic protein(Pa)과 Pr(1-2)형이 많이 나타났으나 유의한 차이는 없었다.

참 고 문 헌

1. 구윤성, 김종열 : “타액 단백질 다형현상과 DMFT index 및 PMA index와의 상관관계에 관한 연구”, 「대한구강내과학회지」, 16(2):9-16, 1991.
2. 구윤성, 김종열 : “한국인 이하선 타액내 Proline-rich protein의 다형 현상에 대한 연구”, 「대한구강내과학회지」, 13(1):35-41, 1988.
3. 김응진 : “당뇨병의 발생빈도”, 「대한의학협회지」, 14:580, 1971.
4. 김응진 외 : 한국인 당뇨병의 역학적 연구, 「서울의대잡지」, 11:25, 1970
5. 김종열 : “한국인 성씨에 따른 이하선 타액내 Pr, Db, Pa의 유전자 빈도에 관한 연구”, 「대한구강내과학회지」, 15:55-59, 1990.
6. 민헌기 : “당뇨병의 분류”, 「대한의학협회지」, 14:585, 1971.
7. 민헌기 : 임상내분비학 ; 고려의학, 1990, pp.225~273
8. 의학연수 교육총서, 제2집 : 약물요법 ; 서울대학교 출판부, 1990, pp.274~279
9. 이귀영·이종순 : 임상병리 파일 ; 도서출판, 의학문화사, 1990, pp.1093~1097
10. 이승우, 정성창, 김영구 : 구강내과학 ; 3판, 고문사, 1990, pp.135~140
11. 이종훈 : 구강생리학 ; 서영출판사, 1985, pp.9:1~9:29
12. 이하규 : 한국인 집단에서의 타액단백질 다형과 유전적 변이에 대한 연구. 서울, 서울대학교, 1989.
13. 정순민, 김종열 : “한국인 울릉도, 자월도 거주민 이하선타액내 Pr, Db, Pa의 유전적 다형현상에 대한 연구”, 「대한구강내과학회지」, 15(1):91-104, 1990.
14. Anderson, L.C., Lamberts, B.L., Bruton, W. F. : “Salivary protein polymorphisms in caries-free and caries-active adult”, J. Dent. Res., 61:393-395, 1982.
15. Azen, E.A. : “Genetic polymorphism of basic proteins from parotid Saliva”. Science, 176:673-674, 1972.
16. Azen, E.A. : “Phosphorylation of proline-rich, double band, acidic and post-Pb proteins of human saliva”, Arch. Oral Biol., 23:1173-1176, 1978.
17. Azen, E.A., Denniston, C.L. : “Genetic polymorphism of human salivary proline-rich proteins : Further genetic analysis”, Biochem. Genet., 12:109-120, 1974.
18. Azen, E.A., Denniston, C.L. : “Genetic polymorphism of PIF(parotid isoelectrofocusingvarriant) proteins with linkage to the PPP(parotid proline-rich protein) gene complex”, Biochen. Genet., 19:475-485, 1981.
19. Azen, E.A., Denniston, C.L. : “Polymorphism of Ps(parotid size variant) and detection of a protein(PmS) related to the Pm(parotid middle-band protein) system with genetics linkage of Ps and Pm to GI, Db and Pr genetic deter-minants”, Biochem. Genet., 18:483-501, 1980.
20. Azen, E.A., Oppenheim, F.G. : “Genetic polymorphism of proline-rich human salivary proteins”, Science, 180:1067-1069, 1974.
21. Bennick, A. : “Structural and genetic aspects of proline-rich proteins”, J.Dent. Res., 66:457-461, 1987.
22. Campbell, M.J.A. : “Glucose in the saliva of the non-diabetic and the diabetic patient”, Arch. Oral Biol., 10:197-205, 1965.
23. Cowman, R.A., Baron, S.S., Fitzgerald, R.J., Danziger, J.L., Quintana, J.A. : “Growth inhibition of oral Streptococci in saliva by anionic proteins from two caries-free individuals”, Infect. Immun., 37:513-518, 1982.
24. Cowman, P.A., Schaefer S.G., Oppenheim, F.P., Hay, D.I. : “Statherin and the proline-rich parotid proteins PRP II 및 PRPV as amino nitrogen sources for plaque-forming oral Streptococci”, J.Dent. Res.,

58:2008–2009, 1979.

25. Friedman, R.D., Merritt, A.D., Rivas, M.L. : “Genetic studies of human acidic salivary protein(Pa)”, Am. J. Hum. Genet., 27:293–303, 1975.
26. Gibbons, R.J., Hay, D.I. : “Human salivary acidic proline-rich proteins and statherin promote the attachment of *Actinomyces viscosus* LY7 to apatitic surface”, Infection and Immunity., 56:439–445, 1988.
27. Hay, D.I. : “Some observation on human salivary proteins and their role in the formation of acquired enamel pellicle”, J. Dent. Res., 48:806–810, 1969.
28. Hay, D.I. : “The interaction of human salivary protein with hydroxyapatite”, Arch. Oral Biol., 18:1517–1530, 1973.
29. Hay, D.I. Bennick, A., Schlesinger, D.H., Minaguchi, K., Madapallimattam, G., Schluckebier, S.K. : “The primary structure of six human salivary acidic proline rich protein”, J. Biochem., 255:15–21, 1988.
30. Ikemoto, S., Minaguchi, K., Suzuk, K., Temita, K. : “New genetic marker in human parotid saliva(Pm)”, Science., 197:378–379, 1977.
31. Ikemoto, S., Tomita, K. : “Frequencies of salivary genetic marker systems in the Japanese population and then application to forensic medicine”, Forensic Science International., 14:41–47, 1979.
32. Ikemoto, S., Tsuchida, S., Nishiumi, E., Tomita, K. : “Genetic polymorphism of PIF proteins in a Japanese population”, Hum. Hered., 37:263–264, 1987.
33. Lynch, M.A. : Burket’s Oral Medicine, Diagnosis and Treatment, ed. 8, phil adelphia, J. B. Lippincott co., 1984.
34. Mandel, I.D., and Bennick, A. : “Quantitation of human Salivary acidic”, J. Dent. Res., 62:943–945, 1983.
35. Minaguchi, K., Bennick, A. : “Genetics of human salivary protein”, J. Dent. Res., 68:2–15, 1989.
36. Minaguchi, K., Shintani, M., Suzuki, K. : “New allelic product of the PRH1 locus coding for salivary acidic proline-rich proteins”, Hum. Hered., 40:221–230, 1990.
37. Minaguchi, k., Suauki, k. : “New salivary protein polymorphisms detected by SDS polyacrylamide gel electrophoresis”, J. Dent. Res., 65:326, 1986
38. Nicholas, C., Laster, L.L, Bodak-Gyovai, L.Z. : “Diabetes mellitus and periodontal disease”, J. Periodontal., 49:85–88, 1978.
39. Oppenheim, F.G., Hay, D.I., Franzblau, C. : “Proline-rich proteins from human parotid saliva : I. Isolation and partial characterization”, Biochem., 10:4233–4238, 1971.
40. Shintani, M., Minaguchi, K., Suzuki, K., Lim, K.A. : “Salivary proline-rich protein polymorphisms in Chinese, Malays and Indias in Singapore”, Hum. Hered., 40:89–98, 1990.
41. Shintani, M., Minaguchi, K., Lim, K.A. : “Allelic variants of acidic proline-rich proteins observed in Japanese, Chinese, and Malay”, Biochemi Genet., 28:173–184, 1990.
42. Smith, Q.T., Runchey, C.D., Shapiro, B.L. : “Polyacrylamide gel slab electrophoresis of human salivary proteins”, Arch. Oral Biol., 19:407–410, 1974.
43. Sortino, F., Avitabile, M.O, Rossett, B., vento, M. : “Comparative research on salivary protein in diabetic and non-diabetic patient with dental caries”, Min. Stom., 35:7–10, 1986.
44. Tenovuo, J., Grahan, E., Lehtonen, O.P., Hyyppa, T., Karhuvaara, L., Vilja. P. : “Antimicrobial factors in saliva : Ontogeny and relation to oral health”, J. Dent. Res., 66:475–479, 1987.
45. Tenovuo, J., Lehtonen, O.P., Viikari, J., Larjava, H., Vilja. P., Tuohimaa, P. : “Immunoglobulins and innate antimicrobial factors in whole saliva of patients with insuline-dependent diabetes mellitus”, J. Dent. Res., 65:62–66, 1986.

A Study on the Polymorphisms in Parotid Salivary Proteins of the Patients with Diabetes Mellitus

Jong-Mo Ahn, D.D.S., Chang-Lyuk Yoon, D.D.S., M.S.D., Ph.D.,

Department of Dentistry, Graduate School, Chosun University

[ABSTRACT]

The purpose of this study was to evaluate the polymorphisms in parotid salivary proteins of the patients with diabetes mellitus.

Saliva from the parotid glands was collected from 94 healthy Korean adults who were live in Kwang-ju and from 33 diabetes mellitus patients who had more than 140mg/dl of fasting -blood sugar for one week.

Diabetes mellitus patient group was subdivided to insulin dependent diabetes mellitus (IDDM) and non-insulin dependent diabetes mellitus(NIDDM).

In the saliva collected from the parotid glands, parotid acidic protein(Pa), proline-rich protein(Pr) and double band protein(Db) were analyzed to evaluate the distribution of phenotype using alkaline slab polyacrylamide gel electrophoresis.

Results were as follows ;

1. The parotid acidic protein(Pa) was found more frequently in the diabetes mellitus patient group than in the control group, but the difference was not statistically significant.
2. The Pr(1-2) type was found more frequently in the control group, but the Pr(1-1) and Pr(2-2) type were found more frequently in the diabetes mellitus patient group and the difference of phenotypic distribution was statistically significant between the two groups. ($p < 0.05$)
3. The parotid acidic protein(Pa) and Pr(1-2) type were found more frequently in the noninsulin dependent diabetes mellitus(NIDDM) patients than in the insulin dependent diabetes mellitus patients, though the difference was not statistically significant.