

당뇨병 환자의 이하선 타액내 Pm의 다형현상에 대한 연구

조선대학교 치과대학 악안면 방사선학 교실* · 구강진단학 교실**

김 재 덕* · 윤 창 룩** · 김 산**

연세대학교 치과대학 구강내과학 교실

최 중 훈

목 차

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

I. 서 론

타액은 구강내에서 여러가지 기능을 수행하는데 타액내에는 많은 점액물질이 포함되어 윤활 작용을 하며 항세균요소가 있어 세균부착억제, 세균응집, 세균증식 및 대사억제 등의 작용을 함으로써 구강조직을 보호한다. 또한 소화요소인 amylase는 녹말을 단당인 맥아당으로 분해하기도 하고 수분대사를 조절하는 등 구강건강을 유지하는데 필수적 요소이다.

이와같이 타액은 구강내에서의 역할이 매우 다양하고 중요하여 많은 연구가 이루어 졌으나 주로 기능적 측면에서의 연구였으며 최근 분자생물학의 발달과 더불어 타액자체내 새로운 단백질들이 속속 발견되고 이러한 단백질들과 다른 질환과의 관계를 규명하고자 다양한 연구가 시도되고 있으며 단백질들의 표현형질을 조절하는 유전자의 구조를 밝히기 위한 분석방법도 개발되었다.

분자생물학적 연구방법으로 1953년 Curby¹¹⁾에 의하여 이하선 타액을 쉽게 채취할 수 있는 double chamber cup이 고안되어 이하선 타액의 성분분석이 가능해 졌고 이하선 타액내 단백질의 다형현상에 대한 연구가 이루어졌다. 1971년 Ward³⁰⁾ 등은 타액내 존재하는 소화효소인 amylase의 다형현상을 밝혔으며 1972년 Azen^{4) 6)}이 이하선 타액내에서 amylase, immunoglobulin A(IgA), lysozyme, albumin 등 지금까지 밝혀진 타액단백질과는 서로 다른 단백질로서 오직 타액내에만 존재하기 때문에 parotid basic protein (Pb)라 명명하였고 이것은 인종에 따라 유전적 빈도에 차이가 있음을 보고하였다. 이후 이하선 타액내 새로운 단백질들이 계속 밝혀지게 되었

* 이 논문은 1993년도 조선대학교 학술연구비의 지원을 받아 연구되었음

다. 이어서 Proline-rich protein(Pr, Azen Oppenheim⁶⁾, 1973), double band protein(Db, Azen 과 Denniston^{3, 5)}, 1974), parotid acidic protein(Pa, Friedman¹²⁾ 등 1975)과 같은 단백질이 존재함이 보고되었고 이 단백질들 역시 유전적으로 다형 현상을 보임이 규명되었다

Ikemoto 등^{14, 17)}은 acid urea starch gel electrophoresis를 시행하여 Pa와 Pb사이에서 새로운 다형현상을 나타내는 단백질을 발견하고 이를 Parotid middle band protein(Pm)이라 명명하였으며 이 단백질은 상염색체 상에 있는 유전자의 지배를 받는 것으로서 Minaguchi 등^{18, 22)}은 Pm이 당단백질로서 이전에 보고된 타액내 당단백질과 구조적으로 유사함을 발견하였다. 또한, Azen과 Denniston^{3, 5)}은 이하선 타액을 Polyacrylamide gel 상에서 isoelectric focusing하여 parotid isoelectric focusing variant(PIF) 단백질을 발견하고 이 단백질 역시 다형현상을 보이며 PIF 표현형질은 상염색체 상에 위치하는 두 대립인자 PIF' 와 PIF 에 의하여 나타나며 PIF' 유전자가 우성임을 최초로 규명하였고 Azen 등^{3, 5)}은 Parotid size variant protein(Ps)를 발견하였고 Ikemoto 등¹⁵⁾은 sodium dodecyl sulfate (SDS) 처리후 타액단백질을 전기영동하였을 때 분자량이 가장 무거운 타액단백질이 다형현상을 보이므로 이 단백질을 Salivary parotid heavy protein(Pb)라 하였다.

이와같이 타액내에는 많은 타액단백질이 존재하고 다형현상이 존재함이 발견된 이후 이를 이용한 인종간의 차이, 인종간의 근연성, 지리적 관계를 규명하고자 많은 연구가 시도되었다. Shintani 등^{25, 26)}은 필리핀인, 중국인, 말레이인, 인도인에서 Pr, Db, Pa, PIF의 유전자빈도를, 구³¹⁾, 김³²⁾, 이^{33, 34)}, 정³⁵⁾ 등은 한국인 이하선 타액내 Pr, Db, Pa의 유전자빈도에 대하여 보고한 바 있고 1979년 Ikemoto^{14, 15)} 등은 이하선 타액의 다형현상이 인류유전학적 근연성 조사뿐만 아니라 법의학상 개인식별 및 친자감별에 응용될 수도 있음을 보고하면서 일본인에 있어서 기존의 혈액성분의 다형현상만을 이용하여 친자감정을 할 경우 잘못 짝지워진 친자를 91.9%까지 제외시킬

수도 있는데 타액단백질의 다형현상을 추가할 경우 94.4%까지 제외율을 증가시킬수 있음을 보고하였다.

타액단백질의 다형현상은 처음에는 법의학적 및 집단유전학적 차원에서 연구가 이루어졌으나 타액단백질과 구강질환 사이에 상관관계가 있다는 가능성이 제시된 이래 최근에는 구강질환과의 관계를 규명하고자 몇몇 연구가 시도되었다. 특히 Oppenheim²⁴⁾은 Proline rich Protein(Pr)이 콜라겐과 구조가 유사하고 proline, glycine, glutamine, asparagin을 많이 함유하고 있으며 치아의 법랑질과도 유사한 구조를 갖고 있어 ionic calcium, hydroxyapatite와도 높은 친화력을 가진 점으로 미루어 Pr이 치아건강과 밀접한 관계가 있다고 생각되어 구강질환과 Pr의 표현형질과의 관계에 대하여 연구하였고, Hay¹³⁾, Cowman 등^{9, 10)}에 의하여 타액단백질과 구강내 세균과의 상관관계, 타액단백질의 다형현상과 치아우식증과의 상관관계가 어느 정도 밝혀졌으며, 국내에서는 구³¹⁾ 등이 타액단백질 Pr, Db, Pa, Pm의 다형현상과 DMFT지수 및 PMA지수와 상관관계를 연구하여 DMFT지수는 Pm (+)형에서, PMA지수는 Pa(+)형과 Pm(+)형에서 각각 높게 나타남을 보고하였고 1992년 최³⁷⁾은 Db가 치아우식 활성군에서 많이 나타나며 유의한 차이가 있음을 보고하여 타액단백질과 구강질환과의 관계를 규명하고자 다수의 연구가 이루어져 왔다.

이와같이 타액단백질의 다형현상과 구강질환과의 상관관계는 주로 acidic PRPs를 중심으로 이루어졌으며 Pm과 같은 basic PRPs와 구강질환과의 관계는 연구가 거의 없는 실정이고 특히, 구³¹⁾ 등의 연구에서 구강질환에 대한 Pm의 역할이 시사되었으나 아직 Pm에 대한 자료는 미미한 실정이다.

구강내 많은 영향을 주는 당뇨병 환자의 타액에 대한 연구에 있어 Tenovuo 등^{28, 29)}은 인슐린 의존형 당뇨를 가진 환자의 전타액을 분석한 결과 타액의 유출량, 단백질함량 및 amylase 활성 등은 정상인과 비교하여 큰 차이가 없으나 Salivary peroxidase은 인슐린 의존형 당뇨환자에서

높게 나타난다고 하였고, Sortino등²⁷⁾은 당뇨병을 가진 환자의 타액이 더 많은 타액단백을 가지고 있음을 보여주었으며 Cambell⁸⁾은 당뇨병 환자의 타액이 비당뇨환자의 타액보다 더 많은 glucose를 함유함을 보고한 바 있다. 안등³⁶⁾은 이하선 타액내 Pa, Pr의 다형현상은 정상인과 당뇨병환자에서 비교한 결과 Pr에 있어서만 유의한 차이가 있음을 보고하였다. 타액내에는 다형현상을 보이는 각종 단백질이 있으나 이들과 구강질환과의 관계는 정확히 규명되지 않고 연구단계이며 특히, 구강질환과 밀접한 관계에 있는 것으로 추정되는 당뇨병 환자의 타액에 대한 연구는 거의 전무한 상태이다.

따라서 본 연구에서는 구강질환에 대한 Pm의 역할이 강하게 시사됨에 착안하여 가장 흔한 대사성 질환으로 전신적 합병증뿐 아니라 구강주위의 지각이상, 설작열감, 치은염, 치주질환, 구강건조증등 많은 구강내 합병증을 유발하는 당뇨병을 가진 환자와 정상인의 이하선 타액내 단백질의 다형현상을 비교분석하여 당뇨병 환자의 타액단백질 중 Pm이 구강질환과의 어떠한 상관관계가 있는지 알아보고자 본 연구를 시도하였다.

II. 연구재료 및 방법

1. 연구 재료

7세부터 74세까지의 광주에 거주하고 있는 건강한 남녀 60명으로 부터 채취한 이하선 타액을 대조군으로, 조선대학교 부속치과병원에 내원한 환자 및 본 병원 내과에 입원중인 당뇨 환자로서 타액채취 1주일 이내의 공복시 혈당이 140mg/dl 이상의 환자 33명의 이하선 타액을 실험군으로 하였으며 일반적으로 일주일 이내 20회 이상 공복시 혈당이 140 mg/dl 이상으로 측정될 때 당뇨병으로 진단을 내리기 때문에 이 수치 이상의 환자를 실험군으로 선택하였다.

2. 연구 방법

가. 이하선 타액의 채취

이하선 타액은 curby의 double chamber cup을 변형시킨 acrylic plastic capsule을 사용하여 자극시의 타액을 채취하였다. 자극제로서는 vitamin C 원액 분말을 사용하였고 capsule부착 후 적당량 구강내 투여하여 빨아먹도록 하였다. 자극하여 분비된 타액을 1.5ml 원심분리용 튜브에 저장한 후 각 표본당 40 μ 씩 정량하여 같은 크기의 원심분리용 튜브에 취하였다. 정량된 이하선 타액은 -70 °C까지 급속냉동 시킨 후 동결건조시켜 전기영동을 시행하기 전까지 -20 °C에서 보관하였다.

나. 전기영동

Azen⁴¹⁾(1972)의 방법대로 동결건조 시킨 타액을 8M urea를 포함한 gel 완충액에 녹여 사용하였다. 전기영동시 지지체로 전분 gel을 사용하였는데 먼저 aluminium lactate 1.765g, lactic acid 5.7ml, 요소 60g(urea, sigma u-1250), 증류수 200ml을 혼합한 gel 완충용액을 만든 후 여기에 다시 200ml의 용액을 취하여 삼각 플라스크에 넣고 교반기위에서 전분 39.5g(starch sigma s-450¹⁾을 덩어리가 생기지 않도록 천천히 첨가한 다음 전열기로 가열하였다. 전분을 가열하는 동안 계속적으로 잘 흔들어주어 플라스크 전체에 열이 고루 전달되도록 하였으며 어느 정도 시간이 지나면 전분용액의 점도가 증가하며 용액이 맑아지게 된다. 전분 용액이 거품을 내며 끓기 시작하고, 충분히 끓었으면 플라스크를 전열기에서 내려 놓고 잘 흔들어 주어 전체적으로 균등한 온도가 되도록 한후 흡입기(aspirator)를 이용하여 기포를 제거하였다. 이러한 기포제거(degassing)과정은 되도록 짧게 효율적으로 하였으며 기포가 제거된 후 준비된 acrylic gel tray (15 x 15cm)에 전분 용액을 부어 gel tray 사방으로 용액이 충분히 퍼지도록 하였다. 이때 완전히 제거되지 않았던 기포들은 전분 gel의 온도가 높으므로 위로 떠오르게 되어 실제로 사용하게 될 gel 하방에는 기포가 없는 균일한 상태를 얻

을 수 있었다. 약 2-3시간 정도 경과하여 gel이 굳으면 줄톱을 사용하여 gel의 두께가 약 6mm가 되도록 상층부를 절단한 후 spatular tip이나 blade를 이용하여 gel상에 시료를 묻힌 여과지가 삽입될 수 있도록 gel의 양극쪽 끝(anodal end)에서 1.5mm정도 떨어진 부위에 홈을 만들었다.

준비된 타액을 gel 완충액에 녹여 그 중 25 μ l를 여과지(4x6mm)에 고루 스며들도록 한 뒤 형성된 홈에 여과지를 삽입하였으며, 이 때 형성된 홈과 여과지와는 밀접하게 접합되도록 하였다. gel에 시료를 묻힌 여과지를 다 심었으면 심은 쪽이 chamber의 (+)쪽으로 오게 하여 gel tray를 전기 영동 장치에 장착시킨후, 양쪽 chamber에 aluminium lactate 8.825g, lactic acid 28.5ml, 증류수 1000ml을 섞어 만든 완충액(Ph 2.4-2.7)을 동량 채우고 chamber의 완충액과 시료를 심은 gel plate가 전기적으로 연결될 수 있도록 gel plate의 양끝이 1cm정도 덮이게 하여 여과지 4장을 겹쳐서 연결하였다.

bridge 완충액이 여과지에 충분히 스며들도록 한 후, gel 표면에 밀착되도록 vinyl wrap을 덮어 전기영동이 진행되는 동안 gel의 수분 증발을 막도록 하였다. 전기영동은 일정전압 150V에서 14시간 동안 수평으로 시행하였으며 전기영동이 진행되는 동안 running plate에서 발생하는 열을 분산시키기 위하여 4°C의 항온실에서 전기영동하였다. 전기영동이 끝난 후 gel을 약 2mm 두께로 절단하여 기포가 많은 상층부를 버리고 하부 2mm만 취하여 amidoblack 10B 1.23g/1% acetic acid 1000ml 용액에 1M cobalt acetate 3ml을 첨가하고, 상온에서 1시간 염색한 후 0.5M H₂SO₄ 용액으로 30분간 탈색하여 청색으로 염색된 Pa, Pm band를 관찰하였다.

III. 연구 성적

각 집단의 이하선 타액을 Azen의 방법에 따라 acid-urea starch gel상에서 전기영동하고 amidoblack 10B로 염색한 후 0.5M H₂SO₄ 용액으로 탈색하여 나타난 gel사진은 다음과 같다. (그림 1)

그림 1에서 볼수 있는 바와 같이 Salivary middle band protein(Pm)은 gel 중간부위 즉, Pa band와 Pb band 사이에서 관찰되었으며 이 band가 나타나는 경우 Pm(+)형, 나타나지 않는 경우 Pm(-)형이 된다.

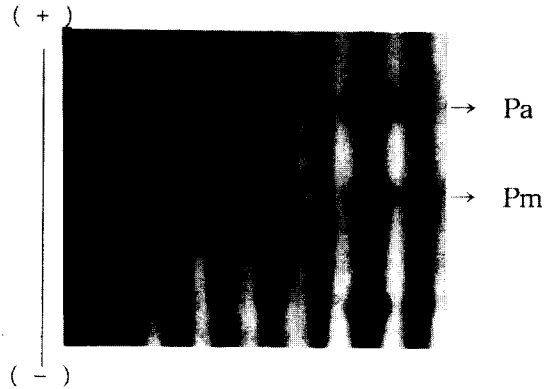


그림 1. Acid-urea starch gel상에서 전기영동한 사진
화살표 표시부분이 Pm band

정상인군 60명과 당뇨병 환자군 33명등 총 93명의 타액을 전기영동한 결과를 상기 방법으로 표현형을 분류하고 Hardy-weinberg의 산출방법에 따라 유전자빈도를 구한 결과는 다음과 같다.(표1)

정상인 60명의 표현형 분포는 Pm(+)형이 38명, Pm(-)형이 22명으로 관찰되었으며 유전자 빈도는 Pm(+) = 0.394, Pm(-) = 0.606 이었다. 당뇨병 환자군 33명의 표현형 분포를 보면 Pm(+)형이 12명으로 나타났으며 유전자 빈도는 Pm(+) = 0.397, Pm(-) = 0.603 이었다.

표 1. 정상인군과 당뇨병 환자군 사이의 Pm의 표현형 분포 및 유전자빈도

표현형 \ 집단(N)	정상인군 (60)	당뇨환자군 (33)
Pm (+)	38 Pm ⁺ a = 0.394	12 Pm ⁺ = 0.397
Pm (-)	22 Pm ⁻ = 0.606	12 Pm ⁻ = 0.603

N : Number of individuals a : Gene frequency

IV. 총괄 및 고찰

타액은 구강내에서 다양한 역할을 하고 구강 미생물의 생태계 조절에 중요한 작용을 하는 여러 단백질이 포함되어 있으며 이들 단백질은 구강조직을 보호하는 환경을 만들고 생물학적 기능을 하고 있기 때문에 타액단백질과 구강질환 사이에 상관관계가 있을 것으로 시사되어 타액 단백질의 유전적 특성 뿐만 아니라 역할을 규명하고자 하였으나 아직까지 확실하게 규명되지 않았으며 임상에서의 응용은 아직도 매우 제한적이라 할 수 있다³⁶⁾.

최근 분자생물학의 발달과 더불어 타액을 구성하고 있는 단백질의 구성성분과 구강내 역할, 타액단백질의 유전형질을 알아보고자 하는 많은 연구가 이루어져 이하선 타액중 proline, glycine, glutamic acid 성분이 약 80%로 이루어진 단백질을 발견하고 proline-rich protein(PRP)라 명명하였으며 이 PRPs는 전 이하선, 악하선 타액의 40%이상을 차지하고 있음도 밝혀졌다. Hay¹³⁾는 수산화인회석(hydroxyapatite)이 타액단백질을 선택적으로 흡수하는데 그중 일부는 proline-rich protein으로서 화학적으로 법랑단백과 유사하며, 수산화인회석과 친화성이 있고, 획득성 법랑질피막(acquired enamel pellicle)을 형성시킨다고 하였다. Gibbon등은 acidic PRPs와 statherin이 apatite표면에 Actinomyces Viscosus 부착을 촉진시킨다고 하였으며, Cowman등⁹⁾은 타액단백질이 S. mutans와 S. sanguis의 질소성장배지(nitrogenous growth substrate)로서 작용한다는 것을 밝혔다.

acidic PRPs는 Ca²⁺, phosphate의 길항제로 작용하면서 구강내에서 hydroxyapatite가 안정화될수 있도록 하는 역할과 동시에 이러한 단백질들이 유전적인 다형현상을 보인다는 사실이 보고되었고 현재까지 acidic PRPs를 구성하고 있는 단백질은 Pr, Db, Pa, PIF, As등 다섯가지로 알려졌다.

한편, Azen⁴⁾이 처음 발견하여 명명한 salivary basic protein (Pb)은 염기성 타액단백질로 basic proline rich protein군에 속하는데 지금까

지 11가지 염기성 단백질이 서로 밀접하게 연관되어 있으나 아미노산의 조성이 다른 동일하지 않는 단백질로 구성되어있음이 밝혀졌다. Kauffman등은 basic PRPs에서 추출한 것을 분석한 결과 lipid성분이 존재하고 단백질이 50% acetone과 1:1 ethanol : ether와 같은 유기용매에 잘 용해된다고 한 바 이것은 단백질이 세포막과의 상호작용에 어떤 관련이 있음을 암시해 준다. 그러나 basic PRPs의 기능이 구강내 치아나 구강점막 또는 타액내 분비물질에 어떻게 작용하는지 아직 밝혀진 바 없다.

parotid middle band protein(Pm)은 basic PRPs의 하나로서 1977년 Ikemoto등^{14) 17)}이 처음으로 이하선 타액을 acid-urea starch gel상에서 전기영동하여 Pa 와 Pb의 중간위치에 존재하는 단백질을 발견한 후 Pm이라 명명하였고 역시 다형현상을 보인다고 하였다. Azen등¹²⁾은 이하선타액을 acid polyacrylamide gel상에서 전기영동하여 새로운 다형현상을 보이는 타액단백질을 발견하여 parotid size variant(Ps)를 발견하여 보고하면서 Ps, Pr, Db, Gl 보다 이동속도가 상대적으로 느린 Pm fast (PmF) 와 Pm slow(PmS)단백질 band를 발견하였는데 PmF와 PmS는 parotid proline-rich protein (PPP) gene complex, 즉 Gl, Pr, Ps 및 Db와 연관되어 있음을 밝혔다. Pm의 유전적 특성에 대하여 Ikemoto등은 198명의 일본인중 Pm(+)형이 120명(61.5%), Pm(-)형이 75명(38.5%)로 나타나고 이에 대한 유전자 빈도는 Pm+ 0.38, Pm- 0.601이며 중국인 20명 중의 Pm(+), Pm(-)형은 각각 10명으로 이의 유전자 빈도는 Pm+ 0.71, Pm- 0.29로 나타난 바 양국 집단간에 유전자빈도가 차이가 남을 보고하였는데 본 연구에서는 한국인을 대상으로 할때 정상인에서 Pm(+)형이 38명(63.3%), Pm(-)형이 22명(36.7%)로 관찰되었고 유전자 빈도는 각각 Pm+ 0.394, Pm-0.606으로 나타났는데 이는 중국인의 Pm+ 0.71, Pm-0.29, 일본인의 Pm+ 0.38, Pm- 0.62와 비교할 때 한국인의 유전자 빈도가 지역적으로 중국인과 일본인의 중간에 위치함을 알 수 있고, 구³¹⁾, 김등³²⁾의 Pm에 대한 연구결과도 Pm의 유전자 빈도가 중국인과 일본인

의 중간에 위치하고 있다는 보고와 동일한 결과를 보이고 있다.

당뇨병 환자에 있어서 당뇨병은 심혈관계 합병증, 안과적 합병증등 전신적 합병증 뿐만 아니라 구강내 다양한 합병증을 야기하기 때문에 당뇨병환자의 타액과 구강질환과 어떠한 관계가 있는지 연구가 이루어졌다. Nicholas등²³⁾은 많은 논란이 되고있는 당뇨병과 치주 질환과의 관계에 있어서 당뇨병이 치주질환에 어떤 영향을 미치는가를 분석하여 통계적으로 유의성을 발견하지 못했지만, Tenovuo등²³⁾은 당뇨병이 사람타액의 유출량과 구성에 미치는 영향에 대하여 정상인과 비교할때 의미있는 차이가 없었으나 인슐린의존형 당뇨병환자에 있어서 salivary peroxidase가 높게 나타난다는 것을 보여 주었다. 또한, Campbell⁸⁾은 당뇨병환자와 비당뇨병환자의 타액내 glucose함량을 분석한 결과, 당뇨병환자에서 의미있는 glucose양을 규명했으며, Sortino 등은 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 추정되어 이에 대한 연구가 시도되었으나 아직까지 명확히 규명되지 못하고 있어 본 연구에서는 당뇨병환자의 타액을 채취하여 단백질의 다형현상을 정상인과 비교한 결과 Pm의 표현형 분포 및 유전자 빈도는 33명중 Pm(+)형이 21명(63.6%), Pm(-)형이 12명(36.4%)으로 관찰되었고 각각의 유전자 빈도는 0.397, 0.606로 나타나 유전자 빈도가 중국인과 일본인의 중간에 위치한 것을 알 수 있으나 한국 정상인의 유전자 빈도인 Pm+ 0.394, Pm- 0.603과는 차이를 볼 수 없었다.

basic PRPs의 하나인 Pm을 검색하고 이의 유전적인 다형현상, 구강내 다양한 합병증을 유발시키는 전신질환인 당뇨병과의 관계를 규명하고자 본 연구를 시도한 결과 본 실험결과로는 이들간의 관계는 정확히 나타나지 않았다.

타액단백질의 다형현상과 각종 구강질환과의

관계는 현재 연구 진행단계라 할 수 있고 당뇨병과 타액단백과의 상관 관계는 Pa, Pr등 일부 단백질에 대하여만 보고되었을 뿐 상호 비교할 수 없었다. 그러나 여러 연구결과를 검토해 볼때 타액내 단백질과 구강질환과는 분명히 밀접한 관계가 있기 때문에 타액단백질의 기능 및 상호작용에 대하여 광범위한 연구가 필요할 것으로 사료된다.

V. 결 론

7세부터 74세까지 광주에서 거주하고 있는 건강한 한국인 남녀 60명과 타액채취전 일주일 이내의 공복시 혈당이 140mg/dl 이상인 33명의 당뇨병환자를 대상으로 각각 이하선 타액을 채취하여 동결 건조시킨 다음 acid-urea starch gel 상에서 aluminium lactate-lactic acid 완충액을 사용하여 수평으로 전기영동하고 gel을 amidoblack 10B/1% acetic acid 용액으로 염색하여 나타난 parotid middle band protein(Pm)의 다형현상을 조사하고 이들간의 차이를 비교분석하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 정상인 60명에서 Pm의 표현형 분포는 Pm(+)형이 38명(63.3%), Pm(-)형이 22명(36.7%)으로 나타났고 유전자 빈도는 Pm+ 0.394, Pm- 0.606으로 나타났다.
2. 당뇨병환자 33명에서 Pm의 표현형 분포는 Pm(+)형이 21명(63.6%) Pm(-)형이 12명(33.9%)으로 그 유전자 빈도는 Pm+ 0.397, Pm- 0.603으로 나타났다.
3. 정상인군과 당뇨병 환자군 사이에 Pm의 표현형에 따른 유의할 만한 차이는 보이지 않았다.

참 고 문 헌

1. Azen, E.A. : Genetic polymorphism of basic proteins from parotid saliva. Science 176 : 673-674, 1972.
2. Azen, E.A. : Properties of salivary basic proteins showing polymorphism. Biochem. Genet. 9:69-86, 1973.

3. Azen, E.A., Denniston, C.L. : Genetic polymorphism of human salivary proline-rich proteins: Further genetic analysis. *Biochem. Genet.* 12:109-120, 1974.
4. 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 genetic Linkage of Ps and Pm to Gl, Db and Pr genetic determinants. *Biochem. Genet.* 18:83-501, 1980.
5. Azen, E.A., Denniston, C.L. : Genetic polymorphism of PIF (Parotid isoelectrofocusing variant) proteins with linkage to the PPP (Parotid Proline-rich protein) gene complex. *Biochem. Genet.* 19:475-485, 1981.
6. Azen, E.A., Oppenheim, F.G. : Genetic polymorphism of proline-rich salivary proteins. *Science* 180:1067-1069, 1973.
7. Bennick, A. : Salivary proline-rich proteins. *Mol. and Cell. Biochem.* 45:83-99, 1982.
8. Campbell, M.J.A. : "Glucose in the saliva of the non-diabetic and the diabetic patient", *Arch. Oral Biol.*, 10:197-205, 1965. 8. Curby, W.A. : Device for collection of human parotid saliva. *J. Lab. Clin. Med.* 41:493, 1953.
9. Cowman, R.A., Schaefer, S.G., Oppenheim, F.P., Hay, D.I. : Statherin and the proline-rich proteins PRP2 and PRP4 as amino nitrogen sources for plaque-forming oral Streptococci. *J. Dent. Res.* 58:2008-2009, 1979.
10. Cowman, R.A., Schaefer, S.G., Perralla M.M., Cornell, A.H. : Differential utilization of proteins in salivary from caries-active and caries-free subjects as growth substrates by plaque-forming Streptococci. *J. Dent. Res.* 58:2019-2027, 1979.
11. Curby, W.A. : Device for collection of human parotid saliva. *J. Lab. Clin. Med.* 41:493, 1953.
12. Friedman, R.D., Merrit, A.D., Rivas, M.L. : Genetic studies of human acidic protein (Pa). *Am. J. Hum. Genetic.* 27:292-303, 1975.
13. Hay, D.I., Bennick, A., Schlesinger, D.H., Minaguchi, H., Mada-pallimattam, G., Schluckebier, S.K. : The primary structure of six human salivary acidic proline-rich proteins (PRP-1, PrRP-2, PRP-3, PRP-4, PIF-s, PIF-f). *Biochem. J.* 255:15-21, 1988.
14. Ikemoto, s., Minaguchi, K., Suzuki, K., Tomita, K. : New genetic marker in human parotid saliva (Pm). *Science.* 197:378-379, 1977.
15. Ikemoto, s., Minaguchi, K., Tomita, K., Suzuki, K. : Variant protein in human parotid saliva detected by SDS polyacrylamide gel electrophoresis and its inheritance. *Ann. Hum. Genet. Lon.* 43:11-14, 1979.
16. Ikemoto, s., Tomita, K., Minaguchi, K., Suzuki, K. : Frequencies of salivary genetic marker systems in the Japanese population and then application to forensic medicine. *Forensic Science International.* 14:41-47, 1979.
17. Ikemoto, S., Tsuchida, S., Nishiumi, E., Tomita, K. : Genetic polymorphism of PIF proteins in a Japanese population. *Hum. Hered.* 37:263-254, 1987.
18. Minaguchi, K., Bennick, A. : Genetics of Human Salivary Proteins. *J. Dent. Res.* 68(1):2-15, 1989.
19. Minaguchi, K., Ikemoto, S., Suzuki, K. : Isolation and partial characterization of a polymorphic protein (Pm) in human parotid saliva. *Biochem. Genet.* 19:617-621, 1981.
20. Minaguchi, K., Ikemoto, S., TaKaesu, Y., Suzuki, K. : Studies of genetic markers in human saliva, (IV) Analysis in electrophoresis of parotid saliva by Sal phenotyping system. *Bull. Tokyo Dental College.* 20:25-30, 1979.
21. Minaguchi, K., Suzuki, K. : Frequencies of salivary genetic marker systems in Caucasians with an emphasis on Pm and Ph system. *Forensic Science International.* 17:5-7, 1981.
22. Minaguchi, K., Suzuki, K. : New salivary proteins polymorphisms detected by SDS polyacrylamide gel electrophoresis. *J. Dent. Res.* 65:326, 1986.
23. Nicholas, C., Laster, L.L., Bodak-Gyovai, L.Z. : "Diabetes mellitus and periodontal disease", *J. Periodontol.*, 49:85-88, 1987.
24. Oppenheim, F. G., Hay, D.I., Franzblau, C. : Proline-rich proteins from human parotid saliva. *Biochemistry* 10:4233-4288, 1971.
25. Shintani, M., Minaguchi, K., Suzuki, K., Lim, K.A. : Allelic variants of acidic proline-rich proteins observed in Japanese, Chinese, and Malays. *Biochem. Genet.* 28:173-184, 1990.
26. Shintani, M., Minaguchi, K., Lim, K.A., Hashimoto, M. : Salivary proline-rich protein polymorphisms in Chinese, Malays and Indians in Singapore. *Hum. Hered.* 40:89-98, 1990.
27. 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.
28. 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.
 29. 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.
 30. Ward, J.C. : Human salivary amylase ; Genetics of electrophoretic variants, *Am. J. Human. Genet.* 23: 403-409, 1971.
 31. 구윤성, 김종열 : 타액단백질 다형현상과 DMFT index 및 PMA index와의 상관관계에 대한 연구. *대한구강내과학회지* 13(1):35-41, 1988.
 32. 김하진, 김종열 : 이하선 타액내 parotid middle-band protein(Pm)의 유전학적 다형현상에 대한 연구, *대한구강내과학회지* 18(1):45-53, 1993.
 33. 이하규 : 온양집단의 타액내 Proline-rich Protein(Pr)의 다형현상에 대한 연구. *성심여자대학 자연과학연구소 연보*, 제9호, 21-27, 1987.
 34. 이하규 : 한국인 집단에서의 타액단백질 다형과 유전적 변이에 대한 연구. 서울, 서울대학교, 1989.
 35. 정순민, 김종열 : 한국인 울릉도, 자월도 거주민 이하선 타액내 Pr, Db, Pa의 유전적 다형현상에 대한 연구. *대한구강내과학회지* 15(1) : 91-104, 1990.
 36. 안종모, 윤창륙 : 당뇨병 환자의 이하선 타액내 단백질의 다형현상에 대한 연구. *대한구강내과학회지* 17(2) : 99-108, 1992.
 37. 최복실, 김종열 : 치아우식 활성군과 비활성군 간의 타액 단백질 표현형 분포에 관한 비교연구, 연세대학교 박사학위논문, 1992

ABSTRACT

A study on the polymorphisms in salivary parotid middle-band protein(Pm) of the patients with diabetes mellitus

Jae-Duk Kim*, Chang-Lyuk Yoon**, San Kim**, Jong-Hoon Choi***

* Department of Oromaxillofacial Radiology, College of Dentistry, Chosun University

** Department of Oral Diagnosis, College of Dentistry, Chosun University

*** Department of Oral Medicine, College of Dentistry, Yonsei University

The purpose of this study was to evaluate the polymorphism in parotid middle-band protein(Pm) of the patients with diabetes mellitus. Saliva from the parotid glands was collected from 60 healthy Korean who were live in Kwang-ju and from 33 diabetes mellitus patients who had more than 140mg/dl of fasting blood sugar for on week.

In the saliva collected from parotid glands, Pm was analyzed to evaluate the distribution of phenotype using acid-urea starch gel electrophoresis

The follow results were obtained

1. The phenotypes of parotid middle band protein(Pm) observed in parotid saliva of the control group(60 people) were Pm(+) in 38 people (63.3%) and Pm(-) in 22 people(36.7%). The gene frequency of Pm+ was 0.394, and that of Pm- was 0.606 .
2. The phenotypes of parotid middle band protein(Pm) observed in parotid saliva of the diabetes mellitus patient group(33 patients) were Pm(+) in 21 patients(63.6%) and Pm(-) in 12 patients(36.4%). The gene frequency of Pm+ was 0.397, and that of Pm- was 0.603.
3. Pm dose not have significant differences between phenotypes on both the control group and the diabetes mellitus patient group.