

구강 질환 진단용 제제

서울치대 구강내과 · 진단학 교실

고 홍 섭

목 차

- I. 서 론
- II. 본 론
- III. 결 론
- 참고문헌
- 영문초록

I. 서 론

대부분의 질환을 진단하는 과정은 체액이나 조직의 검사를 필요로 한다. 이러한 방법을 이용한 질환의 진단은 특정 질환이나 상태에서 특정 물질의 유무, 증가 혹은 감소를 판별하게 하는 진단용 시약을 이용하게 된다. 최근 진단 분야에 있어서의 획기적인 진보로는 다양한 면역화학물질(immunochemicals)과 분자생물학적 시약(molecular biological reagents)의 활용이 가능해짐에 따라 향상된 진단술식의 민감도(sensitivity)과 특이도(specificity)를 들 수 있으며, 이와 더불어 진단용 기구(instrumentation)의 수준 향상으로 가능해진 미세술식(micromethodology)을 들 수 있다. 이러한 기술의 진보에 힘입어 검체의 양이 적다(low sample volume)든지 혹은 분석하고자 하는 물질의 농도가 적다(low analyte concentration)든지 하는 사항은 더 이상 제한요소가 될

수 없으며, 이러한 사항은 치의학 분야에서 검체로 활용될 수 있는 타액의 진단학적 가치를 높이는 근거가 될 수 있다.

본 내용은 현재 가장 급속하게 발전하고 있는 분자생물학 및 유전학적 술식을 이용한 진단학적 적용을 살펴보고, 이와 더불어 치의학 분야의 체액인 타액의 진단학적 활용도를 제고해 봄으로써, 향후 이 분야의 변화를 주도할 수 있는 연구와 물질 개발에 관한 정보 자료로 활용하고자 하는데 있다.

II. 본 론

1. 진단 분야에 있어서 유전학적 정보의 활용

현재 치의학 분야에 있어서 주요 논제는 인체 genome 연구로부터 얻어진 정보와 분자유전학, 임상유전학, 면역유전학, 발생학 등의 분야에서 연구 발전된 개념과 기술을 두개안면질환의 연구에 적용하는 문제이다. 외상에 의해 유발된 질환을 제외한 거의 모든 질환에 유전적 요소가 내재하고 있는 것으로 이해하고 있으며, 이는 유전성 질환뿐만 아니라 바이러스성, 세균성, 진균성 감염성 질환, 신생물, 심혈관계 및 뇌혈관계 질환과 같은 만성 질환의 경우를 포함하여 여러 구강 악안면 질환의 경우도 마찬가지이기 때문이다¹⁾.

* 본 내용은 98년도 서울대학교 정책연구과제 연구비 지원에 의한 것임

연쇄중합효소반응(PCR)을 이용한 분자유전학 검사는 이미 연구실 영역을 벗어나 병원 임상검사실에서 상품화된 재제를 사용하여 일상적으로 활용되고 있고, 그 가능 항목 수도 지속적인 증가 추세에 있으며, 구강악안면 질환의 진단학 분야도 이러한 방향에 예외가 될 수 없을 것이다. 이러한 분야의 연구 결과는 다양한 질환의 임상 진단에 이용될 수 있는 DNA probe나 항체를 제공하고 있으며, 향후 이 분야에 대한 지식의 증가 속도는 현재의 상상력을 초월할 것이다.^{2,3)}

또, 이러한 정보는 환자의 진단 목적 뿐만 아니라 일반인을 대상으로 여러 구강악안면 질환에 위험도가 높은 대상을 검색하는데 활용될 수 있으며, 향후 이러한 대상을 질환 발생으로부터 보호할 수 있는 예방적 조치를 가능하게 할 수 있을 것이다.⁴⁾ 진단학적 PCR(diagnostic PCR)은 이미 유방암⁵⁾, 낭포성 섬유증⁶⁾의 검색에 적용되어 보고된 바 있으며, 치주염의 심도⁷⁾나 감염성 질환 및 자가 면역성 질환⁸⁾에 대한 감수성과 관련된 표시자의 검색에도 적용 보고된 바 있다.

물론, 위험도가 높은 집단에서 질환을 야기시키는 유전자의 돌연변이가 일반 인구 집단에서 같은 질환을 야기시키느냐 하는 문제는 여전히 의문으로 남지만, 유전자 검색은 특히 여러 형태로 나타나는 선천적 두개안면 증후군이나 악성 종양에 우선적으로 적용될 가능성이 매우 높을 것이다. 실제로 모든 선천성 기형의 약 75%가 두개안면 및 경부에 영향을 미치며, 염색체 이상과 조절유전자 및 구조유전자의 돌연변이가 주요 두개안면 기형의 약 14%와 관련되어 있다고 보고되고 있다²⁾. 최근 발생학 및 분자유전학 분야의 진보된 기술의 도움으로 두개안면 기형(craniofacial anomalies)과 관련된 70여개의 유전자, 치아조직이상(dental tissue disorders)과 관련된 30여개의 유전자, 구순 및 구개파열(clefting defects)과 관련된 20여개의 유전자, 두개골융합증(craniosynostosis)과 관련된 3개의 유전자 등에 관한 정보가 보고된 바 있고²⁾, 이에 대한 연구는 현재 가장 활발히 진행되고 있는 분야 중의 하나로서(Table 1 참조, 보다 광범위한 정보는 <http://www.nidcr.nih.gov/cranio/index>.

html을 참조), 이로부터 얻어진 정보는 진단학적 시약이나 술식의 개발로 이어질 것이다.

유전학적 정보를 이용할 수 있는 또 다른 분야는 법치의학 및 범의학이다. 역시 연쇄중합효소 반응법에 의한 amelogenin 유전자의 증폭을 통한 성별감정, VTNR(variable number of tandem repeats)이나 혹은 보다 예민한 STR(short tandem repeats)의 증폭을 통한 개인 식별은 이미 실용화 되어 있으며, 개인식별의 확률 정확도(matching probability)도 보고되고 있다⁹⁻¹²⁾. 물론 활용시 이에 대한 보다 정확한 정보를 제공하기 위해 각각의 술식을 활용하였을 경우 한국인의 개인식별 확률 정확도에 대한 정보가 필요하다.

특히 진단학 분야의 이러한 연구 결과는 생명공학 상품을 생산하는 회사에 의한 세균 및 바이러스의 검출이나 질환의 검색 및 진단, 범의학 분야에 필요한 유전학적 검사를 위한 진단학적 시약 및 상품의 개발 및 생산으로 그 성과가 나타날 것이다. 즉, 기초 분야의 연구 결과를 상업성이 있는 개념이나 상품으로 쉽게 적용할 수 있다는 것으로, 향후 이 분야의 여러 산학협동 연구 및 개발이 필요하리라 생각된다⁴⁾.

2. 타액의 진단학적 활용

질환의 진단을 위해서는 일반적으로 혈액이 사용되지만, 노, 뇌척수액, 활액, 땀, 정액 등과 같은 체액도 진단 목적으로 이용될 수 있으며, 치의학 분야에서는 타액의 검체 가능성을 생각해 볼 수 있다. 특히 타액이 가지고 있는 최대 장점인 채취의 간편성과 안전성은 AIDS와 같은 난치성 감염성 질환의 출현과 더불어 타액의 진단용 검체로서의 가능성에 주목을 끌만한 이유가 되고 있다¹³⁾.

타액은 다양한 항체, 약물, 호르몬, 종양 표시자의 존재와 농도를 조사하는데 사용될 수 있다. 하지만 타액 검사가 광범위하게 사용되지 못한 이유로는 혈청과 비교해 볼 때 타액내 분석물에 대한 지식의 부족을 들 수 있지만, 타액내 분석물의 낮은 농도, 단백질 분해 효소에 의한 분석

Table 1. Recombinant DNA Technology and Craniofacial-Oral-Dental Disorders* (For more information, refer to <http://www/nidcr.nih.gov/cranio/index.html>)

Disorder	Chromosome Localization	Gene
Treacher Collins syndrome	5q32-33.2	Homeobox ?
Craniosynostosis	5qter	<i>Msx-2</i>
Pfeiffer syndrome	8p	FGF receptor 1
Crouzon syndrome	10q	FGF receptor 2
Apert syndrome	10q	FGF receptor 2
Achondroplasia	4p	FGF receptor 3
Amelogenesis imperfecta	X	Amelogenin
Dentinogenesis imperfecta	4q21-25	?
Cleft lip susceptibility	2p13 6	TGF-alpha F13A Bl.Clot.Ftr
Rieger's syndrome	4	EGF
Waardenburg's syndrome	2q35	<i>Pax-3</i>
Aniridia	11p13	<i>Pax-6</i>

*Adapted from Slavkin(1995)²⁾

물의 분해, 점액에 의해 오염, 채취과정의 일관성 부족 등도 문제점이 될 수 있다. 그러나 최근 기술의 발전으로 인해 충분하지 못한 검체량, 분석물의 낮은 농도와 같은 문제점은 제한요소가 되지 않게 되었으며, 일정한 성질을 가진 안정화된 피검물의 채취를 가능하게 하는 타액 채취 kit (예: Orasure, Epitope Inc.; Salivette, Sarstedt Limited; Omnisal, Saliva Diagnostic Systems Inc.)의 개발과 시판은 진단학적 검체로서 타액의 유용성을 증가시키는 계기가 되었다.

타액선의 형태학적, 기능적 변화는 주로 특정 질환이나 약물치료와 관련되며 이는 타액을 진단에 이용할 수 있는 근거가 된다. 이미 오래전부터 구강 및 전신 질환의 진단과 검사에 타액 분비율 및 성분, 타액 미생물 측정 등을 통한 접근이 이루어져 왔다. 즉, 각 타액선별로 채취된 타액 검사 결과를 바탕으로 염증성 질환이나 자가면역 질환과 같은 전신 질환을 평가하거나 치료의 효과를 평가하는데 활용하고자 하였으며¹⁴⁻¹⁶⁾,

선택배지를 이용한 전타액내 특정 균주의 정량적 측정을 통하여 우식활성도나 구강 칸디다증 감염의 표시자로 활용하고자 하는 시도가 있었다^{17,18)}. 하지만 혈액에 비해 타액이 가지고 있는 가장 큰 약점인 생리적 정상치의 큰 변화 폭은 여전히 타액의 진단학적 활용도를 제한하는 가장 큰 장애요인이다¹⁹⁾.

진단학적 중요성을 보이는 타액성분에는 스테로이드 호르몬, 약물, 항체와 종양 표시자가 있다. 스테로이드와 같은 중성의 지용성 물질은 세포막의 지질 이중구조를 통하여 타액내로 수동적으로 확산되므로, 이러한 물질의 타액내 농도는 혈중내에서 실제적으로 역할을 발휘하는(즉, 단백질에 결합되어 있지 않은) 스테로이드 농도와 밀접한 관련성이 있다²⁰⁾.

지용성은 약물의 타액으로의 분비에 결정적인 역할을 한다. 약물의 이온화되지 않은 부분만 생물학적 막을 통과할 수 있으며, 타액내의 약물 농도는 혈장내에서 생물학적으로 역할을 발휘하

는(즉, 단백질에 결합되어 있지 않은) 부분으로 중요한 임상적 의미를 가진다. 현재 타액검사를 통해 여러 종류의 약물 농도를 알아낼 수 있다. 예를 들면 타액은 theophylline, cyclosporin과 phenytoin, primidone, ethosuximide와 carbamazepine같은 진경제의 투여 용량 결정(dose-adjustment monitoring)에 이용될 수 있다. 또, methadone, alcohol, caffeine의 농도와 marijuana, cocaine, nicotine 등의 대사물질을 타액에서 정확하게 측정할 수 있다²¹⁾.

타액내 단백질은 그 농도는 매우 낮지만 40종 이상이 확인되었다. 대부분은 α -amylase와 같은 소화효소와 타액 점진도에 중요한 역할을 하는 당단백질이 그 주요 부분이지만, 바이러스에 특이적인 면역글로불린(viral-specific immunoglobulin)은 중요한 진단학적 의미를 가지고 있다. 타액선은 주로 secretory IgA와 소량의 IgG와 IgM으로 이루어지는 국소 면역계를 가지고 있으며 또한 치은열구 삼출액, 국소 상피세포, 형질세포로부터도 일정량의 IgG, IgA, IgM을 유입 받는다. IgA가 타액에 존재하는 주요 항체라 할지라도 virus-specific IgG와 IgM이 감염된 대상에서 대부분 관찰된다 (Table 2)²²⁾. 물론 타액내 항체의 농도가 혈청에 비해 매우 낮다 할지라도 IgG 혹은 IgM class-specific antibody-capture assay를 이용한 HIV 검사에서 타액 검체는 혈액

을 이용한 검사 결과와 거의 완벽하게 일치되는 민감도(sensitivity)와 특이도(specificity)을 보여 주었다²³⁻²⁵⁾. 이러한 연구 보고를 볼 때 다른 질환에서도 타액을 이용한 손쉽고 빠른 예비 분석 검사법(screening assay)을 적용하기 위한 향후 연구가 기대된다. 이러한 목적을 달성하기 위해서는 DNA 재조합 기술 및 펩타이드 합성을 통하여 적합한 항원이나 conjugate를 제품화하기 위한 시도가 필요하며, 현재 혈액(혈청/혈장) 검사의 목적으로 개발된 여러 kit들을 타액에 적용하기 위한 변형이 필요하다. 예를 들면 타액의 경우 혈액에 비해 많은 양의 검체를 solid-phase에 적용하여야 하고, 장시간의 incubation이 필요하며, 결과 해석시 역치 조정도 필요할 것이다²²⁾. 물론 확진을 위한 진단 술식의 흐름도(flow chart)와 체계(strategy)의 확립은 이와 함께 진행되어야 할 부분이다.

최근 타액내 탈락 상피세포로부터 유래되는 DNA의 연쇄증합효소반응을 이용하여 기존에 혈액으로 가능했던 질환의 진단이나 표시자의 검출에 대한 연구 결과가 보고되고 있다^{7,8,26,27)}. 이를 이용한 질환의 감수성에 대한 검색이 가능하고, 소량의 종양세포가 존재하는 경우라도 이와 연관된 종양유전자의 돌연변이를 식별할 수 있게 됨에 따라, 다량의 검체를 보다 나은 민감도와 특이도를 가지고 검색할 있게 되었으며, 타액내 DNA를 이용한 법치의학적 개인식별도 활발한 연구분야이다. 그러므로 보다 활발한 임상적 적용을 위해서는 보다 간편하고 향상된 타액 채취 kit의 개발 및 표준화와 혈액의 활용시와 달리 타액을 활용함으로써 인해 생길 수 있는 문제점을 극복할 수 있는 진단 kit의 개발이 필요하다.

III. 결 론

분자유전학, 임상유전학, 면역유전학 등의 분야에서 연구 발전된 개념과 기술은 진단학 분야에서 생명공학 상품을 생산하는 회사에 의한 세균 및 바이러스의 검출이나 질환의 진단, 법의학 분야에 필요한 유전학적 검사를 위한 진단학적 시약 및 상품의 개발 및 생산으로 그 성과가

Table 2. Antiviral IgG and IgM Antibodies detected in Saliva

	IgG	IgM
Human Immunodeficiency virus	yes	no
Hepatitis A virus	yes	yes
Hepatitis B virus	yes	yes
Hepatitis C virus	yes	no
Rubella virus	yes	yes
Measles virus	yes	yes
Mumps virus	yes	yes

*Adapted from Parry(1993)²²⁾

나타나고 있으며, 이 분야는 구강악안면 질환의 경우에도 활발하게 적용될 것이다. 즉, 기초 분야의 연구 결과가 상업성이 있는 개념이나 상품으로 쉽게 탈바꿈 할 수 있다는 것으로, 향후 이 분야의 여러 산학협동 연구 및 개발이 필요하리라 생각된다.

이와 더불어 타액검사의 유용성에 제한을 미쳤던 여러 요인들이 기술의 발전에 의해 극복됨에 따라 타액조성에 대한 지식이 급속히 늘어나고 있다. 타액채취의 간편함과 환자에게 아무런 손상을 가하지 않는다는 점은 혈액 채취 시에 있을 수 있는 위험을 감소시킬 수 있을 뿐만 아니라 통증을 유발시키지 않으므로 채취가 어려운 집단에서 사용을 간편하게 해주고 반복적인 검사를 가능하게 해준다. 또, 채취의 간편함과 검사 후 위험한 쓰레기가 발생하지 않는다는 점은 검사실로부터 멀리 떨어진 채취 장소에서 비전문가에 의한 채취 가능성을 증가시켜 광범위한 대상의 연구에 사용될 가능성을 증가시킨다. 이와 더불어 타액 피검물을 연구하는 연구자들이 증가하고 있다는 점도 타액검사가 앞으로 진단학적으로 중요한 역할을 할 것이라는 것을 의미한다. 그러므로 보다 활발한 임상적 적용을 위한 간편하고 표준화된 타액 채취 kit의 개발과 함께 타액을 활용함으로써 인해 생길 수 있는 문제점을 극복할 수 있는 진단 kit의 개발이 필요하다.

참 고 문 헌

- Slavkin, H.C. : Understanding human genetics. *JADA* 127:266-267, 1996.
- Slavkin, H.C. : Recombinant DNA technology and oral medicine. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 758:314-328, 1995.
- Slavkin, H.C. : Craniofacial-Oral-Dental research in the 21th century. *J. Dent. Res.* 76:628-630, 1997.
- Barnett, M.L. : Molecular approaches to oral therapeutics: dentistry in the next millennium? *J. Dent. Res.* 76:1236-1238, 1997.
- Offit, K., Gilewski, T., McGuire, P., Schluger, A., Hampel, H. et al. : Germline BRCA1 185delAG mutations in Jewish women with breast cancer. *Lancet* 347:1643-1645, 1996.
- Witt, D.R., Schaefer, C., Hallam, P., Wi, S., Blumberg, B. et al. : Cystic fibrosis heterozygote screening in 5161 pregnant women. *Am. J. Hum. Genet.* 58:823-835, 1996.
- Kornman, K.S., Crane, A., Wang, H.-Y., di Giovine, F.S., Newman, M.G. et al. : The interleukin-1 genotype as a severity factor in adult periodontal disease. *J. Clin. Periodontol.* 24:72-77, 1997.
- van Schie, R.C.A.A. and Wilson, M.E. : Saliva: a convenient source of DNA for analysis of bi-allelic polymorphisms of Fc γ receptor IIA(CD32) and Fc γ receptor IIIB(CD16). *J. Immunol. Methods* 208:91-101, 1997.
- Balazs, I., Baird, M., Clyne, M., and Meade, E. : Human population genetic studies of five hypervariable DNA loci. *Am. J. Hum. Genet.* 44:182-190, 1989.
- Edwards, A., Civitello, A., Hammond, H.A., and Caskey, C.T. : DNA typing and genetic mapping with trimeric and tetrameric tandem repeats. *Am. J. Hum. Genet.* 49:746-756, 1991.
- Akane, A., Seki, S., Shiono, H., Nakamura, H., Hasegawa, M. et al. : Sex determination of forensic samples by dual PCR amplification of an X-Y homologous gene. *Forensic Science International* 52:143-148, 1992.
- Hammond, H., Jin, L., Zhong, Y., Caskey, C.T., and Chakraborty, R. : Evaluation of 13 short tandem repeat loci for use in personal identification applications. *Am. J. Hum. Genet.* 55:175-189, 1994.
- Mandel, I.D. : The diagnostic uses of saliva. *J. Oral Pathol. Med.* 19:119-125, 1990.
- Boat, T.F., Weisman, U.N., Pallavicini, J.C. : Purification and properties of calcium precipitable protein in submaxillary saliva of normal and cystic fibrosis subjects. *Pediatr. Res.* 8:531-534, 1974.
- Slomiany, B.L., Aono, M., Murty, V.L.N., Slomiany, A., Levine, M.J. et al. : Lipid composition of submandibular saliva from normal and cystic fibrosis individuals. *J. Dent. Res.* 61:1163-1166, 1982.

-
16. Stuchell, R.N., Mandel, I.D., and Baumash, H. : Clinical utilization of sialochemistry in Sjögren's syndrome. *J. Oral Pathol.* 13:303-309, 1984.
 17. Epstein, J.B., Pearsall, N.W., and Truelove, E.L. : Quantitative relationship between *Candida albicans* in saliva and the clinical status of human subjects. *J. Clin. Microbiol.* 12:475-476, 1980.
 18. Steckslen-Blicks, C. : Salivary counts of lactobacilli and *Streptococcus mutans* in caries prediction. *Scand. J. Dent. Res.* 93:204-212, 1985.
 19. Levine, M.J. : Development of artificial salivas. *Crit. Rev. Oral Biol.*, 4:279-286, 1993.
 20. Read, G.F. : Hormones in saliva, In *Human Saliva : Clinical Chemistry and Microbiology Vol. II*, Tenovuo, J.O. Ed., Boca Raton, 1989, CRC Press, Inc., pp 147-176.
 21. Knott, C. : Excretion of drugs into saliva, In *Human Saliva : Clinical Chemistry and Microbiology Vol. II*, Tenovuo, J.O. Ed., Boca Raton, 1989, CRC Press, Inc., pp 177-201.
 22. Parry, J.V. : Simple and reliable salivary tests for HIV and hepatitis A and B virus diagnosis and surveillance, In *Saliva as a diagnostic fluid*, Malamud, D. and Tabak, L. Eds., 1993, Annals New York Academy of Sciences 694:216-233.
 23. Parry, J.V. and Perry, K.R. : Sensitive assays for viral antibodies in saliva : an alternative to tests on serum. *Lancet* 72-75, 1987.
 24. Mortimer, P.P. and Parry, J.V. : The use of saliva for viral diagnosis and screening. *Epidem. Inf.* 101:197-201, 1988.
 25. Crofts, N., Nicolson, S., Coghlan, P., and Gust, I.D. : Testing of saliva for antibodies to HIV-1. *AIDS* 5:561-563, 1991.
 26. Sidransky, D., Boyle, J., and Koch, W. : Molecular screening. *Arch. Otolaryngol. Head Neck Surg.* 119:1187-1190, 1993.
 27. Boyle, J.D., Mao, L., Brennan, J.A., Koch, W.M., Eisele, D.W. et al. : Gene mutations in saliva as molecular markers for head and neck squamous cell carcinoma. *The American Journal of Surgery* 168:429-432, 1994.

- ABSTRACT -

Diagnostic Agents for Oral and Maxillofacial Diseases

Hong-Seop Kho, D.D.S., M.S.D., Ph.D.

Dept. of Oral Medicine & Oral Diagnosis, College of Dentistry, Seoul National University

The most important progress in diagnostic sciences is the increased sensitivity and specificity in diagnostic procedures due to the development of newer micromethodologies and increasing availability of immunological and molecular biological reagents. The outcome of researches in this field has already provided DNA probes and antibodies which can be used for diagnosing various kinds of diseases including inherited ones. This development can be also applied to diagnose diseases in oral and maxillofacial regions.

Technological advances have yielded highly sensitive test methodologies so that low analyte concentration and small sample volume are no longer limiting factors. Therefore, saliva can be useful test fluid for an array of analytes. Salivary constituents of diagnostic significance include steroid hormones, antibodies, drugs, and tumor markers. Of the proteins present in saliva, viral-specific immunoglobulins are of the greatest diagnostic interest. The development of conjugates and antigens by recombinant DNA technique and peptide synthesis is necessary for clinical application. Several kits developed for the purpose of blood testing should be modified to permit their application to saliva.

The final practical outcome of researches in diagnostic sciences will be various diagnostic agents which can be used for detection of bacteria and viruses, screening and diagnosis of diseases, genetic screening for forensic individual identification. For these purposes, collaboration researches and development between institutions and companies are essential.

Key words : diagnostics, dentistry, saliva