

의치 표면에서 심혈관질환과 관련된 치주질환 원인 세균의 검출

임미영 · 김화숙¹ · 정재현 · 양지연 · 오상호 · 국중기^{1*}

조선대학교 치과대학 보철학교실, ¹조선대학교 치과대학 구강생화학학교실

심혈관질환과 관련이 있다고 보고 되고 있는 치주질환 원인 세균들 *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia* 및 *Actinobacillus actinomycetemcomitans*의 검출빈도를 조사하였다. 조선대학교 치과대학병원 보철과에 내원한 상하악 중 한 악에 잔존 치아가 1개 이상 있고, 그 반대편 악에 의치를 장착하고 있는 11명의 환자와 잔존치아가 전혀 없는 4명의 총의치 환자를 대상으로 의치의 관리 정도와 의치 표면 세균막에 심혈관 질환과 관련이 있다고 보고된 치주질환 원인균의 검출 빈도를 조사하였다. 연구 결과 상악과 하악 한쪽만 총의치이고, 반대편 악에는 치아가 있는 환자의 의치 표면세균막에서 치면세균막 및 의치 표면 세균막에서 *P. gingivalis*와 *T. forsythia*가 91%(10/11) 검출되었다. 또한 무치악 환자의 의치 표면 세균막에서 *P. gingivalis*와 *T. forsythia*가 각각 25%(1/4), 75%(3/4)씩 검출되었다. 하지만, 총의치의 장착 정도, 1일 세척 횟수 및 세척 방법에 따른 4가지 치주질환 원인세균 중에 대한 검출빈도를 조사한 결과 이들 간의 별다른 상관관계를 찾을 수 없었다. 이상의 연구결과로 의치 표면 세균막에도 혐기성 세균인 *P. gingivalis* 및 *T. forsythia*가 존재함을 알 수 있었으며, 면역력이 약화되어 있거나, 기존의 심혈관 질환을 가지고 있는 환자의 경우, 의치의 부적절한 관리 및 구강 연조직 손상으로 인한 심혈관 질환의 유발 또는 악화가 초래될 수 있는 가능성이 있음을 알 수 있었다.

Key words □ cardiovascular disease, denture, *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*

심혈관 질환(cardiovascular disease)은 서구 선진국에서 사망의 중요한 원인으로 알려져 있다. 심혈관 질환은 흡연, 비만, 고혈압, 콜레스테롤 등의 고전적 위험 요인(risk factors)이외에도 세균(*Chlamydia pneumoniae*, *Helicobacter pylori*, *Streptococcus sanguinis*) 및 바이러스(Cytomegalovirus, herpes simplex virus) 감염도 중요한 위험 요인으로 알려져 있다(7, 8). 최근의 연구 결과에 의하면 치주질환이 심혈관 질환의 중요한 위험 요인으로 보고 되고 있다(5, 8, 11). Genco 등(5)에 의하면 심근경색(myocardial infarction)과 *Tannerella forsythia* (*Bacteriodes forsythus*)와 *Porphyromonas gingivalis*가 연관성이 있다고 보고하였다. Herzberg 등(9)은 치면 세균막의 세균이 bacteremic episodes 동안 혈류를 타고 이동됨을 보고하였으며, *P. gingivalis*가 혈소판의 응집을 유도할 수 있음을 보고하였다. 최근 Harazthy 등(8)의 보고에 의하면 동맥내막절제술을 시행하는 동안 얻은 atheromas에서 세균의 16S rRNA 유전자를 증폭한 다음, 종-특이 올리고 프라이머를 이용한 증합효소연쇄반응법으로 *T. forsythia*, *P. gingivalis*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, 및 *Prevotella intermedia*들을 검출한 결과 각각의 세균이 30%, 26%, 18% 및 14%씩 검출됨을 보고하였다. Deshpande 등(2)과 Dorn 등(3)은 *P. gingivalis*가 관상 및 경동맥 혈관내피세포를 침입(invasion)할 수 있음을 관찰하여 심혈관 질환의 병원성 세균으로 작용가능성을 보고하였다. 이상의 연구 결과들에 의하면, 치주질환 관련 병원성 세균들 중 *P.*

*gingivalis*가 가장 심혈관질환과 관련성이 많은 것으로 알려져 있다.

부분의치나 의치를 장착하는 환자들의 경우 의치의 청결 정도와 환자의 전신 상태에 따라 캔디다증과 같은 질환이 발생하기도 한다. 부적절한 의치 청소에 의해 *Candida* spp.와 세균들이 증식할 수 있고, 이들에 의해 denture stomatitis(12)와 multiple papillomatosis(4, 14)가 발생할 수 있다. 또한 이들 의치세균막은 위장관 또는 늑막폐에 연관된 전파성 감염(disseminated infection)을 유발시키는 세균들의 저장소 역할을 할 수 있음은 잘 알려져 있다(6, 13).

일반적으로 *T. forsythia*, *P. gingivalis* 및 *A. actinomycetemcomitans* 등의 치주질환 원인 세균들은 혐기성 세균들로서 의치의 표면 세균막에 존재 여부에 대한 연구는 미비하다. 하지만, 구강 내에만 한 개 이상의 치아가 잔존해 있다면, 의치 표면에 *Actinomyces* spp.나 연쇄상구균 등이 초기 집락을 이루고, 치아의 치면세균막에서 유래된 혐기성 세균들이 *F. nucleatum*을 매개로 하여 집락화될 수 있을 것이며, 의치의 관리 상태에 따라 서식하는 세균 종의 차이도 있을 것으로 생각한다. 그러므로, 본 연구에서는 의치의 관리상태에 따른 의치 표면 세균막에 심혈관질환과 관련이 있다고 보고되고 있는 *P. gingivalis*, *T. forsythia* 및 *A. actinomycetemcomitans*의 검출빈도를 조사하여 의치 세균막이 이들 세균의 저장소로서의 역할을 할 수 있는지를 알아보고자 한다.

*To whom correspondence should be addressed.
Tel: 062-230-6877, Fax: 062-224-3706
E-mail: jkkook@chosun.ac.kr

재료 및 방법

연구 대상 및 문진

조선대학교 치과대학병원 보철과에 내원한 상하악 중 한 악에 잔존 치아가 1개 이상 있고, 그 반대편 악에 의치를 장착하고 있는 11명의 환자와 잔존치아가 전혀 없는 4명의 총의치 환자를 대상으로 1) 나이, 성별, 흡연 유무 등의 환자에 대한 개인 정보, 2) 취침전 의치 보관 방법, 3) 의치 제작연도 및 4) 의치 청결관리 방법(물, 세정제, 기타) 등의 문진을 차트에 기록하였다.

의치 치면세균막 채취 및 세균 지놈 DNA 추출

연구 대상자의 의치에서 인상면(협면 및 설면), 의치면, 조직면의 치면세균막을 멸균된 explore로 채취하여 500 ml의 1X PBS 용액에 담았다. 이 때 구강점막조직과 닿는 부분의 치면세균막을 채취할 때 연조직과 먼저 닿는 부분의 주위가 꼭 포함되도록 하였으며, 최소 4군데 이상에서 채취하였다. 샘플은 실험실로 운반하여 bead beater와 0.1 mm glass bead을 이용하여 phenol/chloroform/isoamyl alcohol 법을 이용하여 DNA를 추출하였고, 이를 바탕으로 중합효소연쇄반응법을 시행하였다.

중합효소연쇄반응

본 연구에서 사용된 프라이머는 Table 1과 같았고, 중합효소연쇄반응은 PCR premix (Bioneer, Daejeon, Korea)와 중합효소연쇄반응기(Model PTC-100, MJ Research Inc., Watertown, U.S.A)를 사용하여 시행하였다. 이 때 반응조건은 다음과 같았다. *A. actinomycetemcomitans*를 검출하기 위해 초기 변성은 95°C에서 2분간 시행하고, 94°C에서 1분간 변성, 55°C에서 1분간 재결합, 72°C에서 1분간 핵산 합성의 3 단계를 36회 반복시행하고, 마지막 핵산 합성단계를 72°C에서 10분간 시행하였다. *P. gingivalis*와 *T. forsythia*를 검출하기 위해서는 초기 변성은 95°C에서 2분간 시행하고, 95°C에서 30초간 변성, 60°C에서 1분간 재결합, 72°C에서 1분간 핵산 합성의 3 단계를 36회 반복시행하고, 마지막 핵산 합성단계를 72°C에서 10분간 시행하였다. 또한 *F. nucleatum*의 검출은 초기 변성은 94°C에서 2분간 시행하고, 94°C에서 1분간 변성, 65°C에서 30초간 재결합, 72°C에서 45초간 핵산 합성의 3 단계를 30회 반복시행하고, 마지막 핵산 합성단계를 72°C에서 10분간 시행하였다. 중합효소연쇄반응의 시행 후에 그 반응물을 1.5% 아가로스 젤 상에서 전기영동을 시행하여 예상되

는 증폭물의 크기(Table 1)와 비교하여 치주질환 원인균의 존재 유무를 결정하였다.

클로닝 및 플라스미드 추출

중합효소연쇄반응 증폭물들을 pGEM-T easy vector (Promega, Madison, USA)에 제조회사의 지시에 따라 직접 클로닝하였다. *E. coli* DH5 α 에 transformation시킨 각각의 재조합된 플라스미드 DNA는 통상의 alkaline lysis법(15)으로 AccuPrep[®] Plasmid Extraction Kit (Bioneer)를 이용하여 제조회사의 지시대로 추출하였다.

핵산염기서열 결정

핵산염기서열 결정은 바이오니아사(Bioneer)에 의뢰하여 결정하였다. universal PCR primer (27F; 5'-AGA GTT TGA TC [A/C] TGG CTC AG-3', 1492R; 5'-TAC GG[C/T] TAC CTT GTT ACG ACT T-3')와 Seq-F1 (5'-ggA TTA gAT ACC CTg g-3') 프라이머를 이용하여 결정하였고, 그 결과는 SeqMan 프로그램 (Version 5.00; DNASTAR, Madison, USA)으로 염기서열을 분석하였다. 분석된 핵산염기서열은 GenBank 등의 데이터 베이스를 통하여 상동성 검색을 하여 기존에 알려진 4가지 치주질환 원인균들에 대한 각각의 16S rDNA의 염기서열과 98%이상 상동성을 보일 경우 같은 세균 종이라 판정하였다.

결과 및 고찰

상하악 중 한쪽만 의치이고, 반대편 악에는 치아가 있는 환자의 경우, 치면세균막에 4가지 혐기성 치주질환 원인균들이 존재하였고, 반대편 의치의 표면 세균막에서도 각각의 세균이 검출되었다(Table 2 & 4). 즉, *P. gingivalis*, *F. nucleatum* 및 *T. forsythia*가 10명 환자 치면세균막에서 검출되었고, 이 경우 반대편 악의 의치 표면 세균막에서도 검출되었다. 또한 1명의 환자에서 치면세균막에서 *P. gingivalis*와 *T. forsythia*가 검출되지 않았지만, 반대편 악의 의치 표면 세균막에서는 두 세균 종이 검출되었다. 이외는 반대로 환자 1명의 치면세균막에서 *F. nucleatum*이 검출되었지만 의치 표면 세균막에서는 검출이 되지 않았다. *A. actinomycetemcomitans*의 경우는 1명의 환자에서 검출되었으며, 이때 치면세균막과 의치 표면 세균막 모두에서 검출되었다.

치아가 없으면서 상하악 모두 또는 한 악에 의치가 있는 무치

Table 1. The PCR primers used in this study

Target species	Species-specific primers (5' → 3')	Size of amplicons (bp)
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	TGT AGA TGA CTG ATG GTG AAA ACC ACG TCA TCC CCA CCT TCC TC	404
<i>Actinobacillus actinomycetemcomitans</i>	AGA GTT TGA TCC TGG CTC AG CAC TTA AAG GTC CGC CTA CGT GCC	557
<i>Tannerella forsythia</i>	GCG TAT GTA ACC TGC CCG CA TGC TTC AGT GTC AGT TAT ACC T	641
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	CGG GAG GCA GCA GTG GGG AAT TTG CTT GGG CGC TGA GGT TC	495

Table 2. The clinical parameters of each of patients and the detection of 4 periodontopathogens from plaques of full denture and tooth of its opposite jaw

Patient's No.	Case History		Smoking	Antibiotics treatment		Washing of denture No.	Site	PCR					
	Past	Present		Recent six months	Long period			All	Pg	Aa	Tf	Fn	
21	- ^e	-	-	-	-	-	2	21-5	+	+	-	-	+
								21-6	-	+	-	-	-
								21-7	-	+	-	-	+
								21-8	+	+	-	+	+
								21-9	+	+	-	+	+
22	-	-	-	-	-	-	1	22-1	+	+	-	-	+
								22-2	+	+	-	+	+
								22-3	+	+	-	+	+
								22-4	+	+	-	+	+
								22-9	+	+	-	+	+
41	TO ^d	TO	<one year	0	0	-	2	41-1	+	+	-	+	+
								41-2	+	+	-	+	+
								41-3	+	+	-	+	+
								41-4	+	+	-	+	+
								41-9	+	+	-	-	+
43	ND ^a	MD ^b	>one year	0	1	-	1	43-1	-	+	-	-	+
								43-2	+	-	-	+	+
								43-3	+	-	-	+	+
								43-4	+	-	-	+	+
								43-9	+	-	-	+	+
44	DM ^c	DM	>one year	0	0	-	3-4	44-1	+	+	-	+	+
								44-2	+	+	-	+	-
								44-3	-	+	-	-	+
								44-4	+	+	+	+	+
								44-9	+	+	+	+	+
45	MD ^a HT ^e DM ^b	MD HT DM	- ^e	1	-	-	2	45-1	+	+	-	+	+
								45-2	+	+	-	+	+
								45-3	+	+	-	+	+
								45-4	+	+	-	+	+
								45-9	+	+	-	+	+
46	-	TO ^d	0	-	0	-	-	46-1	+	+	-	+	+
								46-2	+	+	-	+	+
								46-3	-	-	-	-	+
								46-4	+	+	-	+	+
								46-9	+	+	-	+	+
47	TO	-	0	0	0	-	3	47-1	-	-	-	-	+
								47-2	-	+	-	-	+
								47-3	-	+	-	-	+
								47-4	+	+	-	+	+
								47-9	+	+	-	+	+
48	-	TO	0	0	0	-	3	48-5	+	+	-	+	+
								48-6	+	-	-	+	+
								48-7	+	+	-	+	+
								48-8	+	+	-	+	+
								48-9	+	+	-	+	+

^aNephric disease, ^bMyocardial disease, ^cDiabetes mellitus, ^dThe others, ^eNo answer
 +: Positive reaction, -: Negative reaction

(Continued on next page)

Table 2. (Continued in previous page)

Patient's No.	Case History		Smoking	Antibiotics treatment		Washing of denture No.	Site	PCR				
	Past	Present		Recent six months	Long period			All	Pg	Aa	Tf	Fn
49	HT TO	HT TO	1-10 pieces	1	0	2	49-5	+	+	-	+	+
							49-6	-	-	-	-	+
							49-7	+	-	-	+	+
							49-8	+	-	-	-	+
							49-9	+	+	-	+	+
51	-	TO	0	1	-	2	51-1	-	+	-	+	-
							51-2	-	+	-	-	-
							51-3	-	-	-	-	-
							51-4	-	+	-	+	-
							51-9	+	+	-	+	+

^aMyocardial disease, ^bDiabetes mellitus, ^cHypertension, ^dThe others, ^eNo answer
 +: Positive reaction, -: Negative reaction

악 환자의 경우에는 *A. actinomycetemcomitans*를 제외하고 나머지 3 세균 종은 모두 의치 표면 세균막에서 검출되었다(Table 3 & 5). *P. gingivalis*의 경우 25%(1/4), *T. forsythia*의 경우 75%

(3/4) 그리고 *F. nucleatum*의 경우 100%(4/4)에서 검출되었다. 특히, *T. forsythia*는 배양이 까다롭고 치주낭의 깊은 부분에서 서식한다는 사실을 감안한다면 의외의 결과라 할 수 있다. 이러

Table 3. The clinical parameters of each of patients and the detection of 4 periodontopathogens from plaques of full dentures both of the jaws

Patient's No.	Case History		Smoking	Antibiotics treatment		Washing of denture No.	Site	PCR				
	Past	Present		Recent six months	Long period			All	Pg	Aa	Tf	Fn
26	- ^c	-	-	-	-	1	26-1	+	-	-	-	+
							26-2	+	-	-	-	+
							23-3	-	-	-	-	+
							26-4	+	-	-	-	+
							26-5	-	-	-	-	-
							26-6	-	-	-	-	+
							26-7	-	-	-	+	-
							26-8	+	-	-	-	+
30	-	-	-	-	-	2	30-1	-	-	-	+	-
							30-2	-	-	-	+	+
							30-3	+	-	-	-	+
							30-4	-	-	-	+	-
42	TO ^b	TO	0	1	1	1	42-1	+	-	-	+	+
							42-2	+	-	-	+	+
							42-3	+	-	-	+	+
							42-4	+	-	-	+	+
							42-5	+	-	-	+	+
							42-6	-	-	-	-	+
							42-7	+	-	-	+	+
							42-8	+	-	-	+	+
50	TC ^a	TO	1-10 pieces	1	0	3	50-1	-	-	-	-	-
							50-2	+	+	-	-	+
							50-3	-	+	-	-	-
							50-4	+	-	-	-	+
							50-5	-	-	-	-	-
							50-6	-	-	-	-	-
							50-7	+	-	-	-	+
							50-8	+	-	-	-	+

^aTuberculosis, ^bThe others, ^cNo answer
 +: Positive reaction, -: Negative reaction

Table 4. Summary of the detection of 4 periodontopathogens from plaques of full denture and tooth of its opposit jaw

		Plaque on denture base														
		Pg ^a			Aa ^b			Tf ^c			Fn ^d					
		(+)	(-)	T	(+)	(-)	T	(+)	(-)	T	(+)	(-)	T			
Dental plaque on tooth	Pg (+)	10	0	10	Aa (+)	1	0	1	Bf (+)	10	0	10	Fn (+)	10	1	11
	Pg (-)	1	0	1	Aa (-)	0	10	10	Bf (-)	1	0	1	Fn (-)	0	0	0
	T	11	0	11	T	1	10	11	T	11	0	11	T	10	1	11

^a*Porphyromonas gingivalis*, ^b*Actinobacillus actinomycetemcomitans*, ^c*Tannerella forsythia*, ^d*Fusobacterium nucleatum*
 (+): Positive reaction, (-): Negative reaction

Table 5. Summary of the detection of 4 periodontopathogens from plaques of full dentures both of the jaws

		Plaque on denture base											
		Pg ^a			Aa ^b			Tf ^c			Fn ^d		
		(+)	(-)	S	(+)	(-)	S	(+)	(-)	S	(+)	(-)	S
		1	3	4	0	4	4	3	1	4	4	0	4

^a*Porphyromonas gingivalis*, ^b*Actinobacillus actinomycetemcomitans*, ^c*Tannerella forsythia*, ^d*Fusobacterium nucleatum*
 (+): Positive reaction, (-): Negative reaction

한 이유로 본 연구의 중합효소연쇄반응 결과를 재확인하기 위해 *P. gingivalis*, *T. forsythia* 및 *A. actinomycetemcomitans*에 강한 양성(+) 반응을 보인 샘플을 임의로 선택하여 중합효소연쇄반응 증폭물을 클로닝하고, 핵산염기서열을 분석한 결과 각각의 세균 종이 맞게 검출된 것을 알 수 있었다(Table 6). 본 연구에서 사용된 두 세균 종에 대한 중합효소연쇄반응 프라이머는 Ashimoto 등(1)에 의해 개발된 것으로써 두 세균 종의 검출 및 동정에 널리 사용되는 것으로 본 연구에서도 두 프라이머 각각의 세균 종에 대한 특이도가 뛰어난 것을 알 수 있었다.

한 악에 치아가 한 개 이상 잔존하고 반대편 악이 총의치인 환자에서는 무치악 환자에서 보다 더 높은 빈도로 *P. gingivalis* (91%)와 *T. forsythia*(91%)가 검출되었다. 이때 치아에서도 두 세

균 종이 91%씩 검출되었다. 이는 치면세균막에 존재하던 세균이 타액을 통해 의치 표면에 부착되었을 것으로 생각된다. 또한 무치악 환자의 경우에 있어서 이들 세균 종은 혀에서 존재하던 세균이 의치 표면 세균막에 부착되었을 가능성이 있을 것으로 생각된다. 하지만, Kulekci 등(10)은 50명의 무치악 환자의 40%에서 흑색 색소를 만드는 그람 음성 혐기성세균이 혀에서 검출되었지만, *P. gingivalis*는 검출되지 않았다고 보고하였다. 그러므로, 추후 이를 증명하기 위한 실험을 추가적으로 시행해야 할 것이다.

총의치의 장착 정도, 1일 세척 횟수 및 세척 방법에 따른 4가지 치주질환 원인세균 종에 대한 검출빈도를 조사한 결과, 15명의 환자 중 13명은 취침시간을 제외하고 의치를 장착하고 있었

Table 6. Homologous search of the nucleotide sequences of amplicons of 4 periodontopathogens by polymerase chain reaction with species-specific PCR primers

Strains	Species match [GenBank accession number]	Identity (%)
21-5-1(Pg)	<i>P. gingivalis</i> 28-PGI [AF414818]	100
21-5-3(Pg)	<i>P. gingivalis</i> 28-PGI [AF414818]	100
21-5-4(Pg)	<i>P. gingivalis</i> 28-PGI [AF414818]	100
21-5-5(Pg)	<i>P. gingivalis</i> 28-PGI [AF414818]	100
21-5-6(Pg)	<i>P. gingivalis</i> 28-PGI [AF414818]	99
22-1(Pg)	<i>P. gingivalis</i> 28-PGI [AF414818]	99
50-2(Pg)	<i>P. gingivalis</i> 28-PGI [AF414818]	100
51-9(Pg)	<i>P. gingivalis</i> 28-PGI [AF414818]	100
21-8(Tf)	<i>T. forsythensis</i> TR6 [AB053947]	99
	<i>T. forsythensis</i> ATCC 43037 [AB035460]	99
22-2(Tf)	<i>T. forsythensis</i> TR6 [AB053947]	100
	<i>T. forsythensis</i> ATCC 43037 [AB035460]	99
51-9(Tf)	<i>T. forsythensis</i> TR6 [AB053947]	100
	<i>T. forsythensis</i> ATCC 43037 [AB035460]	99
44-9(Aa)	<i>A. actinomycetemcomitans</i> ATCC 29523 [AY362885]	100

다. 하루에 의치를 세척하는 횟수는 1회가 4명, 2회가 7명, 3회가 4명이었으며, 이때 대부분 치약을 이용하는 것으로 조사되었다(Table 7 & 8). 이러한 결과로 의치의 관리 정도와 치주질환 원인균들의 검출 빈도와는 상관관계가 없는 것으로 나타났다. 이는 환자들이 주로 사용한 치약과 칫솔을 이용한 방법이 효과가 없다는 것을 간접적으로 시사한다고 할 수 있다. 여러 연구 결과에 의하면, 환자나 치과의료 종사자가 의치를 세척한다고 할지라도 의치 표면 세균막에 음식물 잔사, 세균막, 그리고 의치 치석 등이 존재한다고 한다(12, 14). 그러므로, 이보다 더 효과적인 의치 관리법의 개발이 필요하다고 생각된다.

현재까지 알려져 있는 세균 식별법에는 세균을 병소에서 일반 배지나 선택배지를 이용하여 분리, 배양하여 생화학적 검사, G+C 함량, fatty acid 조성, 쿨논계의 종류(호기성 세균의 경우) 등을 검사하는 방법, DNA-DNA hybridization 법, 세균 종에 대한 특이 항체를 이용하는 방법, 종-특이 프라이머를 이용한 중합효소연쇄반응법, 세균의 16S rRNA 유전자 염기서열 결정법 등이 개발되어 사용되고 있다. 세균배양법은 가장 고전적이면서 정확성이 높은 방법이다. 하지만 많은 시간, 노동력, 경제력이 필요

로 하기 때문에 현실적으로 매우 어려움이 크다. 또한 모든 세균을 배양할 수 있는 기술이 아직까지는 개발되어있지 않기 때문에 병소에 존재하는 모든 세균을 분리 배양할 수는 없다. 이에 비해 종-특이 프라이머를 이용한 중합효소연쇄반응법은 짧은 시간에 특정 세균의 존재 유무를 알아낼 수 있는 장점이 있다. 이러한 이유에서 본 연구에서도 중합효소연쇄반응법을 4가지 치주질환 원인균의 검출에 이용하였다.

이상의 연구결과를 종합하면, 의치 표면 세균막에도 혐기성 세균인 *P. gingivalis* 및 *T. forsythia*가 존재함을 알 수 있었으며, 면역력이 약화되어 있거나, 기존의 심혈관 질환을 가지고 있는 환자의 경우, 의치의 부적절한 관리 및 구강 연조직 손상으로 인한 심혈관 질환의 유발 또는 악화가 초래될 수 있는 가능성이 있음을 알 수 있었다.

감사의 말

이 논문은 2004년도 조선대학교 학술연구비의 지원을 받아 연구되었음.

Table 7. The clinical parameters of each of patients and the detection site of 4 periodontopathogens from plaques of dentures

Patient's No.	Duration of wearing	Washing times	Washing material	Detection site			
				Pg (+)	Aa (+)	Tf (+)	Fn (+)
21	EB ^a	2	TP ^c	Po ^e /Ti ^f	-	Ti	Po/Ti
22	EB	1	TP	Po/Ti	-	Po/Ti	Po/Ti
41	EB	2	DC ^d	Po/Ti	-	Po/Ti	Po/Ti
42	AD ^b	1	TP	- ^g	-	Po/Ti	Po/Ti
43	EB	1	TP	Po	-	Po/Ti	Po/Ti
44	EB	1	TP	Po/Ti	Ti	Po/Ti	Po/Ti
45	EB	2	TP	Po/Ti	-	Po/Ti	Po/Ti
46	EB	2	TP	Po/Ti	-	Po/Ti	Po/Ti
47	EB	3	TP	Po/Ti	-	Ti	Po/Ti
48	EB	3	TP	Po/Ti	-	Po/Ti	Po/Ti
49	EB	2	TP	Po	-	Po/Ti	Po/Ti
50	AD	3	TP	Po	-	-	Po/Ti
51	EB	2	TP	Po/Ti	-	Po/Ti	-
30	EB	2	water	-	-	Po/Ti	Po
26	EB	1	water	-	-	Po	Po/Ti

^aException of bedtime, ^bAll day, ^cToothpaste, ^dDenture cleaner, ^ePolishing site, ^fTissue site, ^gNot detected
(+): Positive reaction

Table 8. Summary of the clinical parameters of each of patients and the detection site of 4 periodontopathogens from plaques of dentures

		Pg ^a (+)	Aa ^b (+)	Tf ^c (+)	Fn ^d (+)
Duration	All day (n=2)	1	0	1	2
	Exception of bedtime (n=13)	11	1	13	13
Washing times/day	1 (n=4)	2	1	4	4
	2 (n=7)	6	0	7	7
	3 (n=4)	4	0	3	4
Washing material	Toothpaste (n=12)	11	1	12	12
	water (n=2)	0	0	2	2
	Denture cleaner (n=1)	1	0	1	1

^a*Porphyromonas gingivalis*, ^b*Actinobacillus actinomycetemcomitans*, ^c*Tannerella forsythia*, ^d*Fusobacterium nucleatum*
(+): Positive reaction

참고문헌

- Ashimoto, A., C. Chen, I. Bakker, and J. Slots. 1996. Polymerase chain reaction detection of 8 putative periodontal pathogens in subgingival plaque of gingivitis and advanced periodontitis lesions. *Oral Microbiol. Immunol.* 11, 266-273.
- Deshpande, R.G., M.B. Khan, and C.A. Genco. 1998. Invasion of aortic and heart endothelial cells by *Porphyromonas gingivalis*. *Infect. Immun.* 66, 5337-5343.
- Dorn, B.R., W.A. Jr. Dunn, and A. Progulske-Fox. 1999. Invasion of human coronary artery cells by periodontal pathogens. *Infect. Immun.* 67, 5792-5798.
- Ekelund, R. 1988. Oral mucosal disorders in institutionalized elderly people. *Age Ageing* 17, 193-198.
- Genco, R.J., A.W. Ho, S.G. Grossi, R.G. Dunford, and L.A. Tedesco. 1999. Relationship of stress, distress and inadequate coping behaviors to periodontal disease. *J. Periodontol.* 70, 711-723.
- Green, S.L. 1979. Anaerobic pleuro-pulmonary infections. *Postgrad. Med.* 65, 62-66.
- Gupta, S. 1999. Chronic infection in the aetiology of atherosclerosis-focus on *Chlamydia pneumoniae*. *Atherosclerosis* 143, 1-6.
- Haraszthy, V.I., J.J. Zambon, M. Trevisan, M. Zeid, and R.J. Genco. 2000. Identification of periodontal pathogens in atheromatous plaques. *J. Periodontol.* 71, 1554-1560.
- Herzberg, M.C., K.L. Brintzenhofe, and C.C. Clawson. 1983. Cell-free released components of *Streptococcus sanguis* inhibit human platelet aggregation. *Infect. Immun.* 42, 394-401.
- Kulekci, G., T. Bilgin, S. Egilmez, M. Turfaner, and O. Ang. 1993. The presence of black-pigmented gram-negative anaerobes in the oral cavity of edentulous subjects. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* 6, 219-222.
- Li, L., E. Messas, E.L. Jr Batista, R.A. Levine, and S. Amar. 2002. *Porphyromonas gingivalis* infection accelerates the progression of atherosclerosis in a heterozygous apolipoprotein E-deficient murine model. *Circulation* 105, 861-867.
- Manderson, R.D. and R.L. Ettinger. 1975. Dental status of the institutionalized elderly population of Edinburgh. *Community Dent. Oral Epidemiol.* 3, 100-107.
- Martin, B.J., M.M. Corlew, H. Wood, D. Olson, L.A. Golopol, M. Wingo, and N. Kirmani. 1994. The association of swallowing dysfunction and aspiration pneumonia. *Dysphagia* 9, 1-6.
- Pietrokovski, J., J. Azuelos, S. Tau, and R. Mostavoy. 1995. Oral findings in elderly nursing home residents in selected countries: oral hygiene conditions and plaque accumulation on denture surfaces. *J. Prosthet. Dent.* 73, 136-141.
- Sambrook, J., E.F. Fritsch, and T. Maniatis. 1988. Molecular cloning: a laboratory manual. Ed, 2nd. *Cold Spring Harbor Laboratory Press.*

(Received July 21, 2004/Accepted September 13, 2004)

ABSTRACT: Detection Rate of Periodontopathogens Associated with Cardiovascular Diseases in Denture.

Mi-Young Lim, Hwa-Sook Kim¹, Jae-Heon Jeong, Ji-Youn Yang, Sang-Ho Oh, and Joong-Ki Kook^{1*} (Department of Prosthodontic Dentistry and ¹Department of Oral Biochemistry, College of Dentistry, Chosun University, Gwang-ju 501-759, Korea)

The aim of this study is to investigate the detection rate of putative periodontopathogens, *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*, and *Actiobacillus actinomycetemcomitans*, related to cardiovascular diseases (CVD). Plaques were sampled from 15 subjects (4 sites of denture base and/or tooth) with sterilized explorers and were transported in 1X PBS. The detection of periodontopathogens was performed by polymerase chain reaction with species-specific primers based on 16S rDNA. The PCR products were cloned into pGEM-T easy vector and its nucleotides were sequenced in order to confirm the specificity. Our data showed that the detection rate of *P. gingivalis* and *T. forsythia* in denture base of edentulous patients was 25% and 75%, respectively. And the detection rate of *P. gingivalis* and *T. forsythia* in denture base of patient having one more tooth was 91%. The results indicate that plaque of denture base may serve as reservoirs of oral bacteria related to CVD.