

흡연이 치은열구액 내 Matrix Metalloproteinase-9에 미치는 영향

황수정[†] · 김영권¹ · 양승주¹ · 조현정¹

건양대학교 의과대학 치위생학과, ¹건양대학교 의과대학 임상병리학과

Influence of Smoking on Matrix Metalloproteinase-9 in the Gingival Crevicular Fluid

Soo-Jeong Hwang[†], Young-Kwon Kim¹, Seong-Ju Yang¹ and Hyun-Jeong Cho¹

Department of Dental Hygiene, College of Medical Science, Konyang University, Daejeon 302-718, Korea

¹Department of Laboratory Science, College of Medical Science, Konyang University, Daejeon 302-718, Korea

Abstract Matrix metalloproteinase(MMP)-9 is considered important in tissue destruction in periodontitis. The aim of this study was to investigate the influence of smoking on MMP-9 in the gingival crevicular fluid(GCF). GCF samples in upper incisors area from 332 male subjects were collected after the informed consent. The dental examination included the assessment of oral hygiene, gingival inflammation and probing pocket depth. A quantitative assessment of MMP-9 levels in GCF was performed utilizing and immunological procedure. The mean MMP-9 concentrations found in GCF of smokers(30.86 ng/ml) and quit-smokers(29.82 ng/ml) differed from non-smokers(11.33 ng/ml), adjusted by age, gingival index and Community periodontal index($p<0.001$). Smoking seems to influence MMP-9 in GCF regardless of gingival inflammation and age. It means smoking can destruct the periodontal tissue for itself.

Key words Gingival crevicular fluid, MMP-9, Periodontal disease, Smoking

서 론

담배는 4000여 화학물질로 이루어져 있으며, 60여종의 발암물질이 함유되어 있고 각종 암, 심혈관 질환, 호흡기 질환 등을 유발한다. WHO에서는 2009년도에 흡연으로 매년 500만 명 이상 사망하고 60만 명이 간접흡연으로 사망하고 있는 것으로 추산하였고 금연조치를 강화하지 않을 경우 2030년에는 800만명 수준으로 늘어날 것을 예상하였다¹⁾.

흡연은 전신건강 뿐 아니라 구강건강에도 많은 영향을 미친다. Yanagisawa 등²⁾은 남자 547명을 대상으로 한 15년 코호트 연구에서 8개 이상의 상실치아를 가진 군에서 비흡연자군을 기준으로 오즈비(odd's ratio)가 흡연자군이 1.96, 흡연중단군이 1.86이었다고 하였다. 김과 황³⁾은 65세 이상 노인 581명을 대상으로 한 단면연구에서 잔존치아수가 흡연군은 15.77±9.72개, 흡연중단군은 19.15±8.66개, 비흡연군은 18.54±9.51개였으며 잔존치아수에 영향을

미치는 혼란변수를 보정한 후에도 유의한 차이가 있었다고 하였다($p<0.001$).

구강건강에 관한 지수 중 하나인 충 잔존치아수에 영향을 미치는 중대구강병은 치아우식증과 치주조직병이 있다. 흡연과 치아우식증과의 연관성을 살펴보면, Tanaka 등⁴⁾은 가정내 간접흡연이 유치의 치아우식증 유병률에 영향을 미친다고 하였으며 Campus 등⁵⁾은 군인을 대상으로 한 단면연구에서 담배 습관과 우식증의 심각도는 유의한 관련이 있다고 하였다. 그러나, Sakki 등⁶⁾은 780명의 대상자에 치아우식유발균인 *S. mutans*와 흡연과의 연관성은 상당히 약하다고 발표한 바와 같이, 흡연과 치아우식 유발균의 연관성은 논란중이다. Yazdani 등⁷⁾은 15세 502명을 대상으로 한 단면연구에서 비흡연자에 비해 흡연자에서 잇솔질을 하지 않는 비율이 높았다고 하였는데, 이는 흡연자체가 치아우식증을 유발하기보다는 흡연자의 생활습성 중 하나인 구강건강관리습관에 의해 치아우식증 관련 지수가 높게 나타나고 있는 것으로 사료된다.

치아우식증과는 다르게 치주조직병의 경우 흡연의 영향을 직접적으로 받고 있다는 증거들이 많다. 흡연을 중단하면 치은연하 미생물의 생태가 재편성되며⁸⁾ 흡연자는 치석제거나 치근활택 후에 치은연하 세균의 감소가 적다고

[†]Corresponding author
Tel: 042-600-6381
Fax: 042-600-6382
E-mail: denthwang@konyang.ac.kr

하였다⁹⁾. 니코틴을 치은섬유아세포에 첨가하였을 때, 치은섬유아세포의 증식 및 세포주기 진행을 억제하는 것으로 나타났으며¹⁰⁾, 담배 농축물은 Matrix metalloproteinase(MMP)-2, MMP-14, tissue inhibitors of metalloproteinases(TIMP)-2의 mRNA 발현정도와 세포막 추출물의 농도가 증가되어 콜라겐 파괴에 관여한다고 하였다¹¹⁾.

본 연구자는 흡연과 치주건강의 상관성을 평가하기 위해서 치주병관련지수를 이용하여 단면조사연구를 진행하였다³⁾. 그러나, 이들 임상지표는 평가자의 주관에 의해 영향을 받을 수 있어 치주건강을 객관적으로 나타내 줄 수 있는 지표가 필요하다고 사료되었으며, 현재 치주조직병의 진단표지인자로 각광받고 있는 표지들 중 치주조직의 콜라겐과 세포간 기질을 파괴시키는 MMP-9, 염증이 있는 열구나 상피조직에서 발견되는 MMP-8, 염증의 국소적 매개체로 염증전효과를 가지는 IL-1 β 를 최종 연구대상 지표로 선택하여 추후조사 연구를 진행중에 있다.

본 논문은 흡연이 치주건강에 미치는 영향이라는 주제로 진행 중인 추후조사 중 분석이 완료된 기초시점 자료를 이용하여 흡연이 치주조직파괴 및 염증지표로 조명되고 있는 지표 중 하나인 치은열구액 내 MMP-9에 미치는 영향을 검토해보고자 한다.

연구대상 및 방법

1. 연구대상

본 연구는 건양대학교병원 임상연구윤리심의위원회에서 심의를 통과한 후 2009년 9월에서 2010년 7월까지 대조군을 포함하여 편의추출된 대전 2초등학교, 대전 1대학교, 대전 서구보건소 금연클리닉, 대전 관저보건지소 금연클리닉에서 연구과정을 설명한 후 연구참여에 동의한 남자 연구대상자 332명을 모집하였다. 여자의 경우 호르몬 주기에 따라 치은 염증 정도가 변할 수 있다는 타 논문의 결과¹²⁾에 따라 대상자에서 제외하였다. 연구대상자는 10대 145명, 20대 85명, 30대 31명, 40대 37명, 50-64세 26명이며, 그 중 흡연자는 87명, 흡연중단자는 51명, 비흡연자는 201명이다.

2. 연구방법

연구대상자는 기초설문조사를 한 후 치은지수, 치면세균막지수, 치주낭측정, 치아우식증검사 등을 실시하였다. 치면세균막지수는 Turesky modification of the Quingley-Hein index의 기준에 따라 구강내 모든 치아의 협설면을 검사하였다. 치은지수는 Loe-Silness 치은염지수를 사용하고 각 치아의 치은을 6부분을 나누어 구강내 모든 치면을 검사하였다. 치주낭 측정은 WHO probe를 사용하여 각 치아의 치주낭을 6부분으로 나누어 측정하였으며 치주낭 측정결과 및 사진을 이용하여 지역사회치주지수(CPI: Community Periodontal index)도 측정하였다.

<Turesky modification of the Quingley-Hein index>

- 0 치면세균막 없음
- 1 치은연에 점상으로 있음(<=1 mm)
- 2 치은연에 선상으로 있음(<=1 mm)
- 3 치아표면의 1/3이하에 있음
- 4 치아표면의 1/3-2/3에 있음
- 5 치아표면의 2/3이상에 있음

<Silness & Loe 치은지수>

- 0 염증없음
- 1 경미치은염-색조의 약한 변화와 약한 부종
- 2 중등치은염-발적, 부종, 치주낭심측정시 출혈
- 3 고도치은염-궤양, 저절로 출혈

<지역사회치주지수(Community Periodontal Index)>

- 0 건강한 상태
- 1 치주낭 탐사후 단지 출혈만 있음
- 2 치석이 감지되나 치주낭이 3.5 mm이하
- 3 천치주낭(4-5 mm)
- 4 심치주낭(6 mm 이상)

흡연이 악궁 중 상악에 더 영향을 미친다는 선행된 연구결과³⁾에 따라 치면세균막을 제거하고 방습한 후 상악전치부 치간 사이 다섯 부위에서 치은열구액을 각각 paper point #25번으로 1분간 흡습시켰다. 치은열구액은 수집된 즉시 -27°C에서 보관하였다가 2010년 7-8월에 Quantkine human MMP-9(R&D systems, Minneapolis, USA)를 이용하여 동시에 분석하였다. 표본수집이 일괄적으로 이루어지지 않았기 때문에 치은열구액 보관기간은 1-10개월 사이였다. 치은열구액을 흡수시킨 paperpoint 5개를 1 ml Calibrator Diluent RD 5-10에 넣어 교반하였다. 표본 100 μ l로 실험한 예비실험에서 표본의 MMP-9의 농도가 스탠다드 곡선의 직선 부분을 초과하여 다시 표본 20 μ l를 Calibrator Diluent RD 5-10 80 μ l에 섞어 농도를 1/5로 희석하였다. 96 well plate에 Assay Diluent RD1-34를 각각 100 μ l 넣고 스탠다드 용액과 희석된 표본을 각각 100 μ l 넣은 후 약 500 rpm의 마이크로플레이트 교반기 위에서 실온에서 약 2시간 정도 두었다가 흡입하고 4번 씻어내었다. 각 well에 Substrate solution 200 μ l를 넣고 빛이 들어가지 않게 실온에서 30분간 두었다가 Stop Solution 50 μ l를 넣고 450 nm 마이크로플레이트 계측기로 OD값을 측정하고 540 nm에서 재측정하여 보정하였다. 각 표본은 두 번 반복 실험한 후 각 표본의 대표값으로는 반복실험의 평균값을 사용하였다.

통계프로그램은 SPSS 12.0K를 이용하였고, 흡연여부에 MMP-9의 농도에 영향을 끼칠 수 있는 변수들을 확인하고자 치은열구액 내 MMP-9의 농도에 영향을 끼칠 수 있는 관련 변수들은 ANOVA로 유의성 검정을 하였고,

이들 변수들을 공변량으로 처리한 후 각 군간의 치은열구액 내 MMP-9의 농도 차이는 ANCOVA를 사용하여 분석하였으며 유의확률은 95%이다.

결 과

1. 연령증가에 따른 치은지수, 지역사회치주지수, 치은열구액 내 MMP-9의 농도

표 1과 같이 연령대가 증가함에 따라 치은지수, 지역사회치주지수, 치은열구액 내 MMP-9의 농도는 유의하게 증가하였다($p < 0.001$). 그림 1과 같이 연령대별 치은열구액 내 MMP-9의 농도는 10대 평균 7.54 ng/ml, 20대 15.98 ng/ml, 30대 28.47 ng/ml, 40대 36.78 ng/ml, 50대 이상은 45.06 ng/ml이었다.

2. 치은지수에 따른 치은열구액 내 MMP-9의 농도

상악전치부 치아의 치은지수의 평균을 산출한 후 0점에서 1점미만은 0점으로 1점에서 2점미만은 1점으로 2점에서 3점 미만은 2점으로, 3점은 3점으로 변수를 변환하였다. 변환결과 대상자 1명만이 3점을 기록하여 치은지수에 따른 치은열구액 내 MMP-9의 농도차이에 대한 유의성검정에서는 제외하였다. 치은지수의 각 점수대별로 평균 치

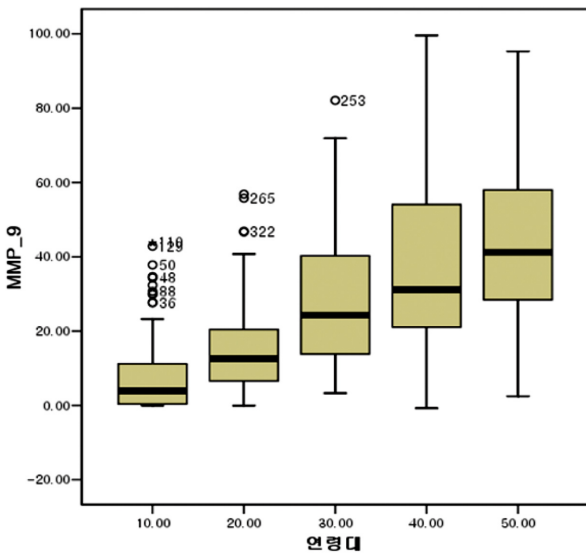


그림 1. 연령대에 따른 치은열구액 내 MMP-9의 농도(ng/ml)

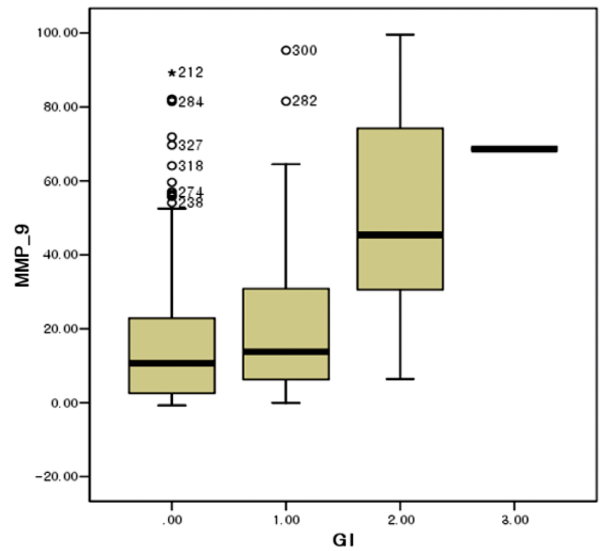


그림 2. 치은지수에 따른 치은열구액 내 MMP-9의 농도(ng/ml)

은열구액 내 MMP-9의 농도를 비교한 결과, 그림 2와 같이 치은지수가 0점인 경우 평균 MMP-9의 농도는 16.15 ng/ml, 1점인 경우 20.97 ng/ml, 2점인 경우 48.79 ng/ml 이었다. 치은지수가 증가함에 따라 치은열구액 내 MMP-9의 농도가 증가하는 경향을 보였으나 유의하지는 않았다($p > 0.05$).

3. CPI에 따른 치은열구액 내 MMP-9의 농도(ng/ml)

그림 3에서 보는 바와 같이, CPI에 따른 치은열구액 내 MMP-9의 평균 농도는 0점 14.74 ng/ml, 1점 6.57 ng/ml, 2점 10.29 ng/ml, 3점 29.71 ng/ml, 4점 56.52 ng/ml였으며 군간 유의한 차이가 있었다($p < 0.001$)

4. 흡연에 따른 치은열구액 내 MMP-9의 농도(ng/ml)

그림 4에서 보는 바와 같이, 흡연에 따른 치은열구액 내 MMP-9의 평균 농도는 흡연군이 30.86 ng/ml, 흡연중단군이 29.82 ng/ml, 비흡연군이 11.33 ng/ml이었으며 상관분석결과 치은열구액 내 MMP-9의 농도에 영향을 주는 것으로 판단된 연령($r = 0.643, p < 0.01$), 치은지수($r = 0.339, p < 0.01$), CPI($r = 0.339, p < 0.01$)을 공변량으로 하여 ANCOVA로 분석한 결과 각 군간 유의한 차이를 나타내었다($p < 0.001$)

표 1. 연령대별 치은지수, 지역사회치주지수, 치은열구액 내 MMP-9 의 농도

	10대 (M±SD)	20대 (M±SD)	30대 (M±SD)	40대 (M±SD)	50세 이상 (M±SD)	p*
GI	0.04±0.14 ^a	0.15±0.34 ^{ab}	0.14±0.41 ^{ab}	0.37±0.75 ^{bc}	0.51±0.89 ^c	<0.001
CPI	0.62±0.91 ^a	1.14±1.46 ^a	0.94±1.39 ^a	2.03±1.55 ^b	2.81±1.10 ^c	<0.001
[MMP-9]	7.54±9.70 ^a	15.98±13.12 ^a	28.48±20.87 ^b	36.79±24.44 ^{bc}	45.06±25.04 ^c	<0.001

* : 일원배치분산분석에 의함
a,b,c : Tukey 사후분석에 의함, 동일문자인 경우 값의 유의한 차이가 없음.

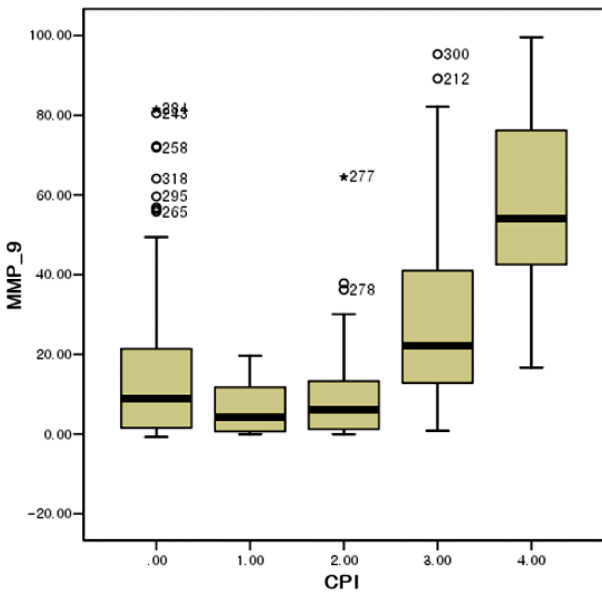


그림 3. CPI에 따른 치은열구액 내 MMP-9의 농도(ng/ml)

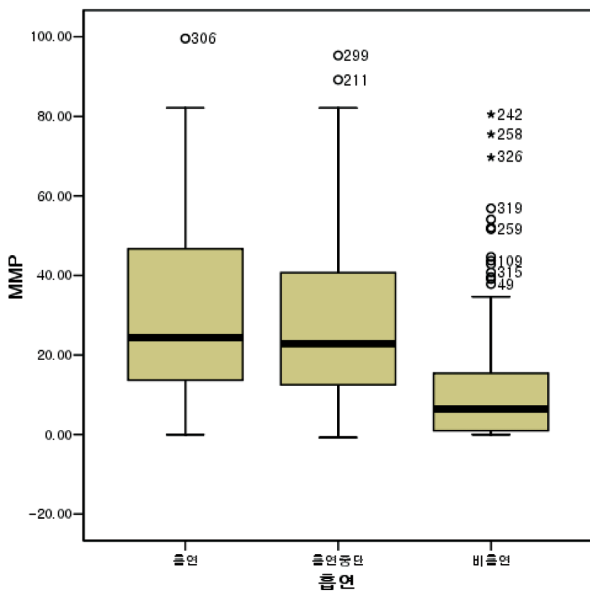


그림 4. 흡연에 따른 치은열구액 내 MMP-9의 농도(ng/ml)

고 찰

Matrix Metalloproteinases(MMPs)는 치주조직 파괴에 있어 핵심적인 단백질분해효소이다¹³⁾. 지금까지 24개의 다른 MMPs가 클로닝되었고 그중 3 종류가 사람에서 발견되었다¹⁴⁾. 분해되는 기질을 기초로 하여 6종류-collagenase, gelatinases(type collagenase), stromelysins, matrilysis, membrane-type metalloproteinases와 기타로 나누고 있다¹⁵⁾. MMP는 모든 세포외기질 단백질을 분해할 수 있기 때문에 존재여부, 양, 활동성에 대한 정확한 정보는 각기 다른 치주질환의 종류의 특성화, 치주조직 파괴의 활성 단계 결정이나 모니터링에 중요할 것으로 생각된다¹⁶⁾.

MMPs 중에서도 MMP-8과 MMP-9은 치주질환에 대한 바이오 마커로 각광받고 있다. Sorsa 등¹⁷⁾은 치주질환에서 주된 교원질 가수분해효소(collagenase)는 MMP-8과 MMP-9임을 보여주었다. Lee 등¹⁸⁾은 활성화된 치주질환 부위의 치은열구액에서 MMP-8과 MMP-9이 증가된다고 하였다. MMP-2, MMP-7, MMP-14와 같은 다른 종류의 MMPs들이 치은 조직에서 형성되더라도 치은열구액 내 가장 많이 보고되고 있는 MMPs는 MMP-8, MMP-9, MMP-13이다¹⁶⁾. 그 중에서 MMP-8의 경우 진료실에서 5분 만에 바로 검사할 수 있는 키트도 개발되었다¹⁹⁾.

그러나, 여전히 MMPs가 치주질환의 바이오마커로 실용화되기에는 극복하지 못한 여러 가지 한계를 가지고 있다¹⁶⁾. 첫 번째는 치은열구액을 한 군데서 채취하는 대신에 치은열구액 풀(pool)을 사용하는 것에 관한 문제, 두 번째는 치료 전 후의 비교에 관한 문제, 세 번째는 대조군에 관한 자료부족 문제이다¹⁶⁾. 본 연구에서도 첫 번째 한계처럼 모든 부위의 치은열구액을 사용하지는 못하고 상악전치부의 치은열구액만을 사용하였다. 이는 모든 부위의 치은열구액 채취시 표본 채득 시간 뿐 아니라 분석에서도 상당한 고가의 비용이 들기 때문에 전악의 치은열구액 채취는 실용화하기는 힘들다. Marcaccini 등¹⁰⁾이 언급한 두 번째 및 세 번째 한계 또한 본 실험에서도 잘 드러나고 있다. 실험치은염 모형을 이용한 이전 연구²⁰⁾에서도 치은열구액 내 MMP-9의 농도에 있어 개인간 편차가 컸으며 본 연구에서도 그림 2에서 보는 바와 같이 치은지수가 0인 경우에도 치은지수 2이상인 대상자의 평균보다 더 높은 MMP-9의 농도를 보이는 대상자가 있고 그림 3에서도 마찬가지로 경향을 보인다. 치은지수나 CPI의 경우는 검사자의 주관에 개입될 수 있는 지표이므로 오히려 치은열구액 내 MMP-9의 농도가 보다 객관적인 지표일 수 있으며 치은염증을 예측하는 지표일 수도 있다. 이를 검증하기 위해서는 치은지수나 CPI가 낮으나 높은 MMP-9의 농도를 보이는 대상자를 추고조사하여 이후 치주질환 발생을 확인해 보는 것이 필요할 것으로 사료되었으며 이러한 연구들을 통해 MMP-9의 치주질환 바이오마커로서의 가능성을 결정할 수 있을 것이다.

위와 같은 한계에도 불구하고 본 실험에서 그림 4와 같이 흡연자가 비흡연자에 비해 치은열구액 내 MMP-9의 농도가 높음을 관찰할 수 있었다. 이는 치은열구액 MMP-9에 영향을 미칠 수 있는 연령, 치은지수, CPI를 보정한 후에도 유의하여 흡연 단독으로도 치은열구액 내 MMP-9에 영향을 줄을 보여주었다. 황 등²⁰⁾이 실험치은염모형에서 흡연이 임상적으로 관찰시에는 치주조직의 염증을 발생 시키지는 않았으나 흡연자군의 치은열구액 내 MMP-9의 농도와 IL-1 β 의 농도가 비흡연자군에 비해 높은 것과 동일한 결과이다. MMP-9은 파골세포가 골흡수 부위로 이동할 수 있도록 하는 핵심 proteinase중 하나이므로²¹⁾ 흡연자에 있어서 치조골 흡수가 더 활발할 것으로 사료되었다.

흡연과 구강건강에 관한 국내 논문은 흡연과 임상지수-치은염지수, 치주낭깊이 등의 관계를 조사^{22,23)}하거나, 흡연에 관한 구강건강인식도 설문조사^{24,25)} 등이 대부분이다. 본 연구는 주관적으로 영향을 받을 수 있는 설문조사나 임상지수가 아닌 MMP-9이라는 치주조직의 객관적 지표를 이용하여 흡연이 치주조직에 미치는 영향을 조사한 논문으로 그 의의가 있다. 본 논문은 흡연이 치주건강에 미치는 영향에 관한 기초시점 자료이며, 현재 연구대상자에 대한 추구조사가 진행 중에 있으나 초기시점 대상자의 상당수가 추구조사 중에 중도탈락하였다. 그럼에도 불구하고 MMP-9 외에 MMP-8과 염증전 지표인 IL-1 β 가 분석 중에 있으며, 흡연에 관한 보다 정확한 정보를 위해 타액 내 니코틴과 니코틴 대사물질인 코티닌도 분석 중에 있다. 본 연구가 종료되는 시점에는 MMP-9뿐 아니라 여타의 치주조직 내 객관적 지표의 상관관계 등을 비롯하여 흡연이 치주건강에 미치는 기전을 일부 해석할 수 있을 것으로 예상된다.

요 약

본 연구는 흡연군, 흡연중단군, 비흡연군의 치은열구액 내 MMP-9을 측정하여 흡연과 치은열구액 내 MMP-9의 관계를 조사하고자 2009년부터 9월부터 2010년 7월까지 본 연구에 동의한 332명을 대상으로 기초설문조사와 치면세균막지수, 치주낭측정 등을 실시하고 치은열구액을 상악전치부 치간 사이 채취하여 치은열구액 내 MMP-9의 농도를 측정하여 분석하였다. 그 결과,

1. 연령대에 따른 치은열구액 내 평균 MMP-9의 농도는 10대 7.54 ng/ml, 20대 15.98 ng/ml, 30대 28.47 ng/ml, 40대 36.78 ng/ml, 50대 이상은 45.06 ng/ml로 집단간의 차이는 유의하였다($p < 0.001$).
2. 치은지수에 따른 치은열구액 내 평균 MMP-9의 농도는 0점 16.15 ng/ml, 1점 20.97 ng/ml, 2점 48.79 ng/ml로 치은지수가 증가함에 따라 치은열구액 내 MMP-9의 농도가 증가하는 경향을 보였으나 유의하지는 않았다($p > 0.05$).
3. CPI에 따른 치은열구액 내 평균 MMP-9의 농도는 0점 14.74 ng/ml, 1점 6.57 ng/ml, 2점 10.29 ng/ml, 3점 29.71 ng/ml, 4점 56.52 ng/ml였으며 군간 유의한 차이가 있었다($p < 0.001$).
4. 흡연여부에 따른 치은열구액 내 MMP-9의 평균 농도는 흡연군이 30.86 ng/ml, 흡연중단군이 29.82 ng/ml, 11.33 ng/ml이었으며 연령, 치은지수, CPI을 공변량으로 보정한 전, 후 모두에서 각 군간 유의한 차이를 나타내었다($p < 0.001$).

흡연, 흡연중단군이 비흡연군에 비해 치은열구액내 MMP-9의 농도가 높은 것으로 나타나 흡연은 치은열구액 내 MMP-9의 농도를 증가시키고 있는 것으로 보이며 MMP-

9은 치조골 파괴 및 치주질환에 영향을 미치므로 흡연자에서 치주질환 발생 및 발생가능성이 높을 것으로 사료되었다.

감사의 글

본 연구는 2009-2010년도 한국연구재단 일반연구자지원사업/여성과학자지원사업에서 지원하였음(2009-0069179, 2010-0017314)

참고문헌

1. 보건복지부: 2010년도 흡연예방 및 금연클리닉 사업 안내. 서울: 보건복지부, 2010.
2. Yanagisawa T et al.: Relationship of smoking and smoking cessation with number of teeth present : JPHC oral health study. Oral Dis 15(1): 69-75, 2009.
3. 김혜영, 황수정: 대전 동구 일부 노인의 흡연, 경제적 상태와 노인 구강건강의 연관성. 대한구강보건학회지 35(1): 67-76, 2011.
4. Tanaka J et al.: Household smoking and dental caries in schoolchildren: the Ryukyus Child Health Study. BMC Public Health 10: 335, 2010.
5. Campus G et al.: Dose smoking increase risk for caries? A cross-sectional study in an italian military academy. Caries Res 45(1): 40-46, 2011.
6. Sakki T, Knuutila M.: Controlled study of the association of smoking with lactobacilli, mutans streptococci and yeasts in saliva. Eur J Oral Sci 104(5): 619-622, 1996.
7. Yazdini R et al.: Smoking, tooth brushing and oral cleanliness among 15-year-olds in Tehran, Iran. Oral Health Prev Dent 6(1): 45-51, 2008.
8. Fullmer SC et al.: Smoking Cessation Alters Subgingival Microbial Recolonization. J Dent Res 88(6): 524-528, 2009.
9. Grossi SG et al.: Effects of smoking and smoking cessation on healing after mechanical periodontal therapy. J Am Dent Assoc 128(5): 599-607, 1997.
10. 김탁 등: 니코틴이 치은섬유아세포의 세포주기 조절 단백질 발현에 미치는 영향. 대한치주과학회지 31(3): 597-610, 2001.
11. Zhang W et al.: Effects of cigarette smoke condensate and nicotine on human gingival fibroblast-mediated collagen degradation. J Periodontol Dec 13, 2010. [Epub ahead of print]
12. Becerik S et al.: Effects of menstrual cycle on periodontal health and gingival crevicular fluid markers. J Periodontol 81(5): 673-681, 2010.
13. Uitto VJ et al.: Proteolytic host cell enzymes in gingival crevice fluid. Periodontology 2000 31(1): 77-104, 2003.
14. Visse R, Nagase H.: Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases: structure, function and biochemistry. Circ Res 92(8): 827-839, 2003.
15. Hannas AR et al.: The role of matrix metalloproteinases in the oral environment. Acta Odontologica Scandinavica 65(1): 1-13, 2007.
16. Marcaccini AM et al.: Gingival crevicular fluid levels of MMP-8, MMP-9, TIMP-2, and MPO decrease after periodontal therapy. J Clin Periodontol 37(2): 180-190, 2010.
17. Sorsa T et al.: Cellular source, activation and inhibition of dental plaque collagenase. J Clin Periodontol 22(9): 709-717, 1995.
18. Lee W et al.: Evidence of a direct relationship between

- neutrophil collagenase activity and periodontal tissue destruction in vivo: role of active enzyme in human periodontitis. *J periodontol Res* 30(1): 23-33, 1995.
19. Mantyla P et al.: Gingival crevicular fluid collagenase-2(MMP-8) test strip for chair-side monitoring of periodontitis. *J Periodontol Res* 38(4): 436-439, 2003.
 20. 황수정 등: 실험치은염모형에서 흡연의 영향. *대한구강보건학회지* 32(4): 434-442, 2008.
 21. Inui T et al.: Matrix metalloproteinases and lysosomal cystein proteases in osteoclasts contribute to bone resorption through distinct modes of action. *Biochem Biophys Res Commun* 258(1): 173-178, 1999.
 22. 김한홍 등: 일부지역 실업계 고등학교 남학생의 구강관리실태 및 흡연과 치은염과의 상관성 분석. *치위생과학회지* 9(5): 513-518, 2009.
 23. 장분자, 남인숙: 일부 대학 스켈링센터 방문환자의 흡연 및 음식주와 치주낭 형성의 관련성. *치위생과학회지* 10(2): 117-122, 2010.
 24. 김희경 등: 일부 치위생(학)과 학생들의 흡연실태 및 인식도 조사. *치위생과학회지* 9(2): 241-247, 2009.
 25. 김숙향 등: 일부 대학생의 흡연 행위와 주관적 구강건강 인식도와의 관련성. *치위생과학회지* 5(3): 139-143, 2005.

(Received June 10, 2011; Revised August 05, 2011;
Accepted August 13, 2011)

