

구강유래자원의 바이오뱅크

한다울¹⁾, 조은애산드라^{1)*}

연세대학교 치과대학 구강병리학교실¹⁾

〈Abstract〉

Biobanking of Oral-Derived Bioresources

Dawool Han¹⁾, Eunae Sandra Cho^{1)*}

¹⁾Department of Oral Pathology, Oral Cancer Research Institute, Yonsei University College of Dentistry, Seoul, Korea

Oral-derived bioresources(ODBs) for human-derived material research have been mainly sampled by individual researchers. Difficulties in ODB secure has impeded advances in dental research and associated industries. ODBs have been obtained in a few biobanks within general hospitals, yet the amount of oral-derived specimens is relatively low compared to other organs and lacked practical clinical data. Recently, biobanks of dental hospitals have started systematic management in South Korea, thus these biobanks are expected to invigorate high-quality ODB banking in the field. In this review, we will discuss the collection and utilization of ODBs, such as teeth, dental plaque, gingival crevicular fluid and saliva, and the need of dental hospital-based biobanks.

Key words: Oral-derived bioresources, Human-derived material, Biobank, Dental hospital, Translational research

I. INTRODUCTION

질병관리본부 국립중앙인체자원은행 운영·관리 규정 제2조 제1호에 따르면 인체자원이란, 인체유래물과 그에 관련된 임상·역학정보를 포괄적으로 지칭하는 용어이다¹⁾. 인체자원을 수집·보관하는 기관을 인체자원은행 또는 인체유래물은행(biobank)이라고 한다. 이때 인체자원은행은 생명윤리 및 안전에 관한 법률 제2조 제13호와 제41조 제1호에 따라 보건복지부장관에게 개설 허가 및 관리를 받고 타인에게 자원을 분양할 수 있다²⁾. 한국인체자원은행 사업 (Korea Biobank Project, KBP)의 제1~3기 사업에 참여한 국립중앙인체자원은행과 17개의 민간 인체자원단위은행을 비롯하여 국내에는 2017년 기준으로 69개의 인체유래물은행들이 있다³⁾. 2021년 3월부터 시작한 KBP 제4기 사업에는 더 확대된 규모인 10개의 거점은행들 및 24개의 협력은행들이 참여한다⁴⁾. 2021년 기

준, 보건복지부장관에게 개설 허가를 받은 치과병원 기반 인체자원은행은 총 4군데(부산대학교 치과병원, 사과나무치과병원, 서울대학교 치과병원, 연세대학교 치과병원, 가나다순)이다. KBP 제1~3기 사업에 참여한 치과병원 기반 인체자원은행은 없었으나 제4기 사업에는 서울대학교 치과병원을 거점은행으로 하여 사과나무치과병원과 연세대학교 치과병원까지 포함한 최초의 치과병원 기반의 인체구강유래물자원은행(이하 구강자원은행) 네트워크가 구성되었다. 이번 문헌 고찰에서는 치과병원 기반의 인체자원은행에서 주로 다루는 구강유래특수자원인 치아, 치태, 치은 열구액 및 타액을 중심으로 구강유래자원의 수집과 활용에 대해 논의하려 한다. 아울러 구강유래자원의 बैं킹에서의 치과병원 기반 인체자원은행의 역할에 대해 확인하려 한다.

1. 구강유래특수자원의 특성과 활용

1) 치아, 치아주위조직 및 치아 가공 이차자원

치아는 법랑질, 상아질, 맥락질과 같은 경조직과 신경혈관

* Correspondence: Eunae Sandra Cho, Department of Oral Pathology, Oral Cancer Research Institute, Yonsei University College of Dentistry, Seoul, Korea
Tel: +82-2-2228-3031
Email: sandra@yuhs.ac
ORCID: 0000-0002-0820-3019
Received: Mar. 31, 2021; Revised: Mar. 31, 2021; Accepted: Apr. 02, 2021

조직이 풍부한 결합조직성 치수로 구성되어 있다⁵⁾. 치아에는 포함되어 있지 않지만 치아와 둘러싸는 치조골을 연결하는 치주인대가 있으며 치아 발치 시 치근에 부착된 채로 떨어져 나오기도 한다. 발치된 치아는 성장기에 자연 탈락하는 유치와 질병 또는 교정 치료 목적으로 발치되는 영구치가 있다. 일반적으로 치아우식증, 외상, 흡수가 동반된 치아는 발치 시 이미 손상이 되어 있으나 치주질환에 의해 동요도가 있는 치아 및 교정 치료를 위한 소구치 발치는 건전한 치질의 치아를 확보할 수 있다. 치아는 크거나 구조적인 기형을 동반할 수 있어 수집 시 관련 정보가 구체적으로 기록되어야 한다^{6,7)}. 건전 치수 조직을 얻기 위해서는 치수염이나 신경치료를 한 치아를 피해야 한다.

치아의 경조직은 재료 연구, 환경 역학 연구, 진단 연구 및 재생 연구 등에 쓰일 수 있다. 치아의 경조직은 골소실 부위의 이식재와 같은 치과생체재료로서 가능성이 있는 동시에 수복 재료와 접착제 등 치과생체재료를 연구하기 위한 플랫폼으로 쓰이기도 한다⁸⁻¹²⁾. 일정한 시기에 탈락하는 유치는 태아 및 소아 생애주기 내 화학물질, 중금속 및 환경 유해 물질 노출을 추정할 수 있어 역학 연구에 활용된다¹³⁻¹⁶⁾.

치아는 인체에서 유일하게 체외로 노출된 경조직이다. 구강 내로 완전히 노출된 치관부와 치은열구를 사이에 두고 치은으

로 한층 덮여 있는 치관부는 다양한 혐기성 세균들이 상주하는 경조직 생물막(biofilm)을 이루어 특징적인 마이크로바이옴을 구성한다^{17,18)}. 개인의 구강 위생 및 치주 건강 상태와 관련된 치태 침착 그리고 치은 열구액 분비는 그 자체로 치아와 주위 조직의 마이크로바이옴에 영향을 주기도 하고 연구자들이 마이크로바이옴을 확인할 수 있는 매개체이기도 하다¹⁸⁻²¹⁾. 치태와 치은 열구액은 타액에 비해 발생하는 상대적인 검체 양이 적으나 마이크로바이옴의 부위별 특이성을 비침습적으로 확인할 수 있다는 장점이 있다. 한 개인에서도 치아 간의 치주질환 이환 및 골 소실 정도에 따라 마이크로바이옴 분포에 차이가 있을 수 있고 치은연상 및 치은연하 마이크로바이옴의 구성도 상이하다²²⁻²⁵⁾. 따라서 마이크로바이옴 연구를 위한 검체 수집 시에는 치식을 비롯한 검체의 구체적인 채취 부위와 방법을 상세하게 기록하여 연구자들이 분양 시 참고할 수 있도록 해야 한다. 이외 치은 열구액은 치주질환 진단과 바이오마커 연구에 활발히 활용되고 있다^{19-21,26,27)}. 치주질환과 심혈관질환, 당뇨, 폐렴, 종양, 치매 등 다양한 전신질환이 연관성이 있다는 연구 결과들이 활발히 생성되고 있는 만큼 치태와 치은 열구액 검체는 구강질환뿐만 아니라 전신질환의 병인을 밝혀거나 진단법을 찾는 데 기여할 것으로 기대된다²⁸⁻³¹⁾.

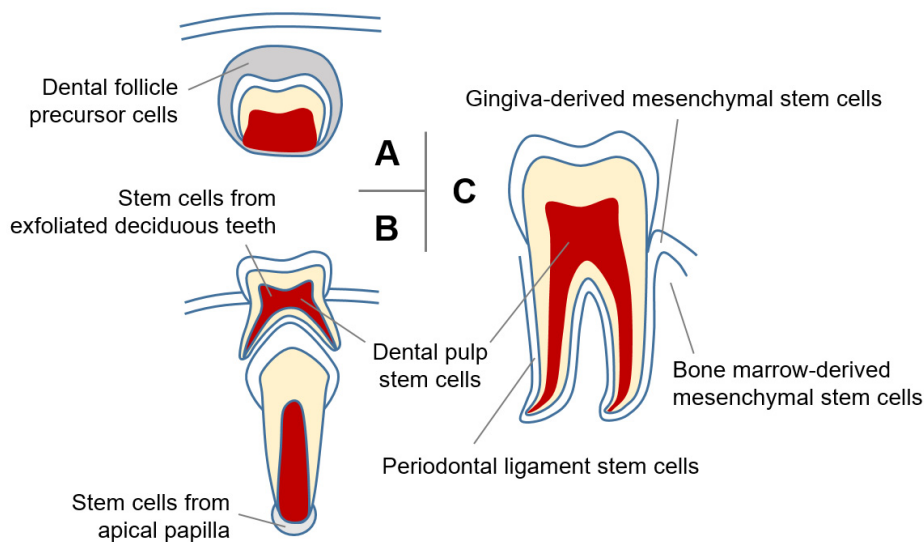


Fig. 1. Sources of dental tissue-derived mesenchymal stem cells

Dental tissue-derived mesenchymal stem cells can be obtained from (A) the dental follicle, (B) pulp tissues of exfoliated deciduous teeth, extracted permanent teeth, or apical papilla and (C) periodontal tissues such as gingiva, periodontal ligament and bone marrow.

중간엽 줄기세포(mesenchymal stem cells, MSCs)는 치아 및 치아주위조직에서 가공할 수 있는 대표적인 이차자원으로 많은 치아 전문 인체자원은행에서 MSCs의 배양을 중요 자원으로 내세우고 있다³²⁻³⁴. MSCs는 성체의 기질 조직에서 분리한 줄기세포로 골세포, 연골세포, 지방세포 및 근육세포 등 다양한 결합조직 세포로 분화할 수 있는 다분화능(multipotent) 세포들이다³⁵. MSCs는 치수, 치낭, 치주인대, 치근유두, 치은 및 골수에 있다^{36,37}(Fig. 1). MSCs는 기존 진료 외 추가 술식 없이 자연 탈락한 유치, 질병이나 교정치료를 위해 발치한 영구치 및 동반된 치은 조직에서 분리할 수 있다^{38,39}. 염증이나 과사가 동반된 치수나 치은 조직에서도 MSCs를 분리할 수 있으나 비염증성 조직에서 획득한 MSCs와 다른 생물학적 특성을 보일 수 있다⁴⁰⁻⁴³. MSCs는 치아, 치주인대 및 치수 재생과 같은 치의학 영역의 연구뿐만 아니라 상처 치유, 연조직 및 골 재생, 면역조절 연구 등에 광범위하게 쓰인다⁴⁴⁻⁴⁹.

2) 타액, 협점막 도말 및 구강 린스

두경부 영역에는 3개의 대타액선(이하선, 악하선, 설하선)과 무수한 소타액선들이 있다. 소타액선은 경구개 전방부와 부착 치은을 제외한 구강에 전반적으로 분포하고, 비강, 부비동, 인후두, 기도 및 폐 점막 하방에도 위치한다⁵⁰. 타액선에서 발생하는 타액은 저작과 같은 자극에 의해 발생하는 자극성 타액과 구강 움직임이 없는 상태에서 발생하는 비자극성 타액으로 구분된다⁵¹. 자극성과 비자극성 타액은 시간당 발생량, 점도, 단백질, 호르몬 및 미생물에 차이가 있다⁵²⁻⁵⁶. 타액은 대부분 물이며 뮤신, 이온, 효소 및 항균 성분으로 구성되어 있다⁵⁷. 칼슘, 아밀레이즈, 뮤신 및 타액 단백질들의 비율은 연령에 따라 차이가 있을 수 있다⁵⁸⁻⁶². 일반적으로 채취한 타액에는 타액 뿐만 아니라 치은 열구액, 탈락한 상피세포, 잔여 음식 성분, 백혈구, 미생물 및 체내 화합물 성분들이 포함되어있다⁵³.

타액 내 성분들은 대체로 혈청에 비해 농도가 낮다고 알려져 있지만 진단 기술의 민감도 향상으로 타액에서 호르몬, 항체, 효소, 사이토카인, 성장인자, 체내 약물, 세균 및 바이러스 등을 효과적으로 검출하여 진단 목적으로 사용할 수 있다⁶³⁻⁶⁸. 타액에서는 미생물의 유전정보(DNA, RNA) 말고도 인체

의 유전정보를 포함하고 있다⁶⁷. 이런 요소들을 통해 치아 우식증, 치주염, 구강암과 같은 구강 질환 및 타액선에서 발생한 타액선종양, 쇼그렌 신드롬이 외에도 심혈관 질환, 당뇨, 신장 질환, 신경정신질환, 낭포성 섬유증, 다른 장기의 종양, 인간 면역결핍 바이러스, 간염 바이러스, 헤르페스 바이러스, 독감 바이러스 등 전신 질환의 진단에 활용할 수 있다는 연구 결과들이 나오고 있다^{67,69-72}.

협점막 도말 및 구강 린스 검체에서 대상자의 DNA를 간편하게 추출할 수 있으나 함유된 RNA 및 단백질의 양이 적어 추출에 어려움이 있을 수 있다⁷³⁻⁷⁵. 최근 협점막 도말과 구강 린스는 구강 마이크로바이옴 수집에 흔하게 활용되고 있다⁷⁶⁻⁷⁹. 특히 구강 린스는 구강 마이크로바이옴의 전반적인 양상을 대표하는 검체를 얻는데 타액보다 우수하다고 한다^{79,80}.

2. 구강유래자원의 수집 및 보관

두경부 영역에서는 일반적인 연조직 검체 외 구강유래특수 자원인 치아, 치태, 치은 열구액 및 타액을 확보할 수 있다. 치과병원에 기반한 인체자원은행들의 수집 자원 현황에 대한 공식적인 보고는 아직 없지만 치과 검체들의 특성을 고려하였을 때 혈액 자원 위주의 국립중앙인체은행과 종양성 질환의 혈액과 연조직 검체가 대표 자원인 KBP 인체자원단위은행들과 달리⁸¹ 치과병원 기반의 인체자원은행들은 치주질환, 구강 점막질환, 골수염, 타액선염 등 염증 질환을 바탕으로 한 구강 유래특수자원을 위주로 구성될 것을 예상할 수 있다. 특히 치아, 치태 및 치은 열구액은 채취를 위해 전문적인 기술을 요하며 보통 치과의사들에 의해 수집 가능하다. 검체의 수집, 보관 및 질 관리가 잘 정립되어 있는 일반 연조직이나 혈액 검체에 비해 구강유래특수자원에 대한 수집 및 관리 지침은 아직 논의 단계에 있다. 일반 연조직 검체에 견주어 마련된 관리 지침들이 있지만 검체 내 상세 유전정보, 단백질 및 기타 화합물들을 기준으로 장기간 추적하며 분석한 결과들이 부족하다. 이 중 치태와 치은 열구액의 관리에 대한 보고는 매우 부족한 실정이며 인체자원은행 주축의 연구들이 필요하다. 구강유래자원의 수집 기준은 기관별로 상이하여 대규모 연구 코호트를 구축하는데 어려움이 있다. 표준화 대상은 채취 술식 뿐만 아니라 구체적인 채취 위치, 양, 시간, 환자의 구강 및 전신 상태,

습관 조절 등이 포함된다. 구강유래특수자원의 수집과 보관에 대한 표준화된 규약을 마련하는 것은 치과병원 기반의 인체자원은행들이 당면한 중요 과제이다.

1) 치아 및 치아유래 줄기세포

발치 한 치아를 운송할 때에는 phosphate buffered saline(PBS)이나 Hanks buffered saline solution(HBSS)와 같은 평형 염액(balanced salt solution), 혹은 상용화 제품(HypoThermosol[®], MesenCult[™] basal medium)들이 보존 용액에 담아야 한다^{34,82,83}. PBS는 비용이 더 비싼 상용화 운반 용액과 보존 정도에 차이가 없어 실용적이다⁸³. 치아의 세포는 4℃ PBS에 운반하였을 때 최대 120 시간 이내 배양이 가능하다고 보고 되어 있지만 대부분의 문헌에서는 치아 발치 후 40~48 시간 이내에 조직 처리 할 것을 권장한다^{34,83,84}. 세포 추출이 필요한 치아는 멸균된 식염수로 세척한 후 polyvinylpyrrolidone-Iodine(PVP-I) 및 sodium thiosulfate 등으로 살균 처리한 다음 치수관에서 치수 조직을 추출, 조직 분해, 세포 분리, 배양을 통해 중간엽 줄기세포를 얻는다. 추출한 MSCs 및 별다른 가공을 하지 않은 치아 자체는 저온(-80℃ 혹은 -170℃ 이하)에서 보관한다. 이때 얼음 결정 발생에 의한 세포막 손상을 방지하기 위하여 10% dimethyl sulfoxide, ethylene glycol, propylene glycol와 같은 동결보호제를 사용하기도 하며⁸⁴, 자기장을 이용한 냉동 법 등을 사용하여 손상을 최소화하기도 한다^{82,85}.

지난 연구에 따르면, 동결 보존된 치아에서 추출한 MSCs가 세포 줄기성(stemness)을 유지할 수 있으며 적절한 배지에서는 다분화능이 보존된다고 한다⁸⁴. 이런 조건에서 치주인대 조직도 세포의 활성을 유지할 수 있으며, 표면 단백질이나 효소들의 특성도 유지된다고 한다^{85,86}. 동결 보존 치아와 유래 MSCs의 생물학적 및 물리적 성질의 변화에 대한 장기간 추적 연구는 부족하지만 2년 간의 동결 보존되었던 MSCs가 활성을 유지하고 조골세포로 분화하여, 치아 및 유래 MSCs의 장기간 보존의 가능성을 시사하기도 했다⁸⁷. 동결 보존된 치아는 동결 보존하지 않은 치아에 비해 강도는 큰 차이가 없지만, 수직 치아 파절의 부작용을 보여 이에 대한 추가적인 평가가 필요하다⁸⁶. 연구 목적에 따른 치아 자체의 보관 관리에

대한 연구 결과들은 거의 없으며 향후 연구 수요에 맞추어 분석해볼 필요가 있다.

2) 타액, 협점막 도말 및 구강 린스

타액은 혈액이나 조직에 비해 비침습적 채취가 가능하며 환자가 직접 할 수 있을 정도로 절차가 간단하고 혈액과 달리 응고를 방지하기 위한 절차가 필요 없다^{64,69}. 이런 장점에도 불구하고 타액은 일주기, 식사, 껌 저작 여부, 월경주기, 항콜린제, 항우울제, 항이뇨제와 같은 약물 복용, 양치, 가글 등의 요소에 영향을 받으므로 검체 채취 시 이에 대한 고려와 통제가 필요하다^{57,88-90}. 타액선 기능을 떨어뜨리는 약물이나 두경부종양으로 방사선 치료를 받은 환자, 쇼그렌 신드롬 환자, 감염 및 타석으로 인한 타액선염이 있는 환자는 타액선 기능 저하로 인해 타액의 충분한 확보가 어려울 수 있다^{51,91}.

타액, 협점막 도말 및 구강 린스는 채취 직전의 음식물 섭취, 물 이외 음료 섭취, 껌 씹기, 흡연, 양치, 구강세척액의 사용 등에 영향을 받을 수 있으므로 검사 30분 전부터 이를 자제해야 한다⁶⁸. 타액은 흘리기, 빨기, 스펀지 흡수 및 석션으로 모을 수 있다⁶⁸. 빨아서 모은 타액은 구강 내에서 떨어진 미생물까지 해서 더 풍부한 마이크로바이옴이 포함될 수 있으므로 타액 수집 시에는 채취 방법을 통일할 필요가 있다⁹².

타액은 멸균된 채취용 튜브 혹은 상용화된 키트에 담으며, 그 양은 키트 마다 다르지만 대략 1.0-2.5mL 정도이다. 타액을 채취용 튜브에 모을 때는 대략 5분을 연속으로 모으는 것이 권장된다⁹³. 이때 자극은 타액선 분비에 영향을 줄 수 있으므로 대상자는 움직임을 최소화해야 한다.

채취된 타액은 2-8℃에서 단기간 보관이 가능하며 최대 48 시간 이내에는 분리 정제를 해야 한다^{68,73,94}. 키트에 따라 동결 보존 전 검체의 보관 방식이 상이하며, 이동 중에는 4℃를 유지해야한다. 임시 냉장 보관은 미생물 증식을 억제하고 효소 활성으로 인한 타액 단백질의 분해를 저해한다⁶⁸. 타액 성분에 따라 분해 속도는 달라 IgG와 프로게스테론은 상온에서 각각 일주일 및 세달 간 보관을 해도 농도에 변화가 없는 반면에 카테콜아민은 매우 짧은 생물학적 반감기로 인해 급격하게 분해된다^{95,97}. 부적절한 온도에서 임시 보관된 타액은 보관된 시간이 길어질수록 왜곡된 성분 비율을 보이게 된다.

타액 채취 후 세포 용해 및 원심분리 처리 과정을 통해 원하는 연구 표적을 분리한 후 동결 보존한다. 동결 보존된 타액은 5년이 지난 후에도 단백질 및 유전 정보가 유지된다는 결과가 있어 타액의 장기간 저장 가능성이 예측되나 이는 개별 단백질, 호르몬, 마이크로바이옴 및 유전 정보에 따라 상이할 수 있으므로 추가 연구가 필요하다⁸⁾. 인체자원은행들은 타액 자원의 수요를 예측하여 타액 검체를 분리 보관하고 질 관리 계획을 세워야 한다.

협점막 도말은 멸균된 면봉으로 양쪽 협점막을 30-45초 정도 문질러 채취한다. 이를 멸균된 튜브에 담아 4℃를 유지한 채로 48시간 이내에 이송되어 DNA 추출을 해야한다^{73,99)}. 구강 린스는 0.9% 생리식염수, PBS 또는 알코올 성분의 가글액을 45-60초 간 머금고 있다가 뱉어서 채취하며, 마찬가지로 4℃를 유지한 채로 48시간 이내에 이송하여 DNA 추출을 해야 한다^{74,75,99)}. 알코올 성분의 가글액은 마이크로바이옴에 영향을 줄 수 있어 미생물 연구 사용에는 부적절하다.

3) 구강 마이크로바이옴

마이크로바이옴은 인체 내부 및 표면에 서식하는 세균, 바이러스, 진균, 원생동물과 같은 미생물들의 집단과 이들의 유전 물질을 의미한다¹⁰⁰⁾. 마이크로바이옴은 인체 검체를 직접 분석하거나 미생물을 검체에서 분리 배양하여 연구할 수 있다^{101,102)}. 현재의 기술로는 미생물 종류의 90% 이상을 연구실 환경에서 배양할 수 없어 배양 조건에 살아남는 미생물만 배양할 수 있다¹⁰³⁾. 특히 혐기성 세균은 혐기성 환경을 생성할 수 있는 워크스테이션 장비 등을 이용해야 한다¹⁰⁴⁾. 옴믹스 기술의 발전으로 단편적인 시간을 구성하는 마이크로바이옴의 분석은 용이하나, 시간 및 공간에 따라 역동적으로 변하는 마이크로바이옴의 양상을 온전히 분석하는 것은 한계가 있다^{105,106)}. 그러므로 마이크로바이옴 연구를 위한 자원의 수집은 채취 조건의 설정과 통제가 결정적인 요소이다¹⁰⁶⁾. 항생제나 스테로이드제와 같이 구강 마이크로바이옴을 변화시킬 수 있는 약물의 사용은 충분한 휴지기를 가져야 하나 상세 조건은 추가 연구가 필요하다.

마이크로바이옴의 채취 시 미생물 계를 유지 반영할 수 있는 완전 표본(intact sample)을 얻어야 한다. 구강은 세부적인

해부학적 위치에 서식하는 마이크로바이옴의 조성 및 구조가 다르므로¹⁰⁷⁾ 연구 목적에 맞춰 채취할 검체의 위치를 명확히 설정하고 채취 방식을 결정해야 한다. 이는 인체자원은행이 단독으로 결정하기는 어려우며 마이크로바이옴 연구를 하는 연구자들과 꾸준한 교류를 통해 조절해야 한다. 구강 마이크로바이옴은 타액에 부유 미생물, 치아, 치태 및 점막 표면의 부착 미생물로 나눌 수 있다¹⁰⁸⁾. 부유 미생물은 타액이나 구강 린스를 통해 수집할 수 있고 부착 미생물은 점막 표면 도말이나 치태 채취로 얻을 수 있다.

마이크로바이옴은 -80℃에서 장기간 동결 보존이 가능하며 유전 정보가 비교적 온전하게 유지된다고 한다^{100,109)}. 미생물 계통에 따라 유지가 되는 기간은 다를 수 있으므로 이에 대한 주기적 분석이 필요하다. 유전체는 상온에서 24시간 내 분석 가능하지만 전사체와 대사체는 분자 안정성이 떨어지므로 4℃에서 수송 후 최대한 빨리 분석해야 한다. 혐기성 세균은 열린 공간에서 산소가 노출이 되면 운반 도중에 사멸하므로 혐기성 환경을 유지한 용액과 전용 용기에 운반할 것을 권장한다^{108,109)}.

3. 인체자원은행 내 고품질 자원의 생성을 위한 고려사항

대다수의 질환 중심형 인체자원은행들은 병리 검사 후 남은 검체 위주의 수집을 하다보니 수집에 비해 분양이 못 미친다는 문제가 대두되었다¹¹⁰⁾. 미국의 456개 인체자원은행 관리자들을 상대로 설문조사를 한 결과, 약 70%가 수집 자원이 잘 활용되지 않고 있다고 대답하였다¹¹¹⁾. 자원의 활용이 떨어지는 원인으로서는 연구 수요가 거의 없는 검체를 무작정 수집하는 행위, 연구자 기대에 못 미치는 검체 질 관리와 임상 정보의 연계, 검체 수집과 관리에 대한 표준화 지침의 부족, 분양 정보의 부족과 절차의 어려움 등이 있다.

이러한 문제를 타개하기 위해 인체자원은행들은 '남은 검체'들을 최대한 확보하던 것에서 연구자 수요를 충족시킬 수 있는 고품질 자원의 확보로 패러다임을 옮기고 있다. 이는 기존의 연령과 성별 정보뿐만 아니라 질환 맞춤형 임상, 역학, 영상 및 병리 정보의 확보를 통해 얻을 수 있다. 또 환자 별로 조직 검체와 짝지어 수집한 체액 및 마이크로바이옴 검체를

마련하는 다중 자원의 수집, 환자의 진료 진행에 따른 장기 추적 및 자원 수집, 전신질환 정보 및 건강한 대조군 검체의 확보를 통해 지원할 수 있다. 채액이나 마이크로바이옴은 하루 중 채취 시기나 방식, 구강위생 행위, 약물 복용 여부, 식습관 등에 영향을 받으므로^{99,112-114)} 수집 조건에 대한 상세 정보의 기록을 통해 자원의 질을 높일 수 있다. 이러한 정보는 인체자원은행 단독의 노력으로 도달하기는 어려우며 자원을 기증하는 임상 의들과 및 분양 받을 연구자들과의 꾸준한 소통 및 협력 체계로 달성할 수 있다.

대다수의 구강 질환과 같이 검체가 희귀 할수록 연구에 필요한 적절한 수의 검체를 단독 기관에서 분양 받기 어려울 수 있다. 인체자원은행 별로 자원 수집 및 보관에 대한 규약이 다를 경우, 이들을 통해 분양 받은 자원들을 동일한 연구에 적용하기 어려울 수 있다. 구강질환이나 구강유래자원과 같은 특수 자원을 전문으로 하는 인체자원은행들은 네트워크 결성 및 운영 표준화로 연구자들에게 대규모 자원 코호트를 제공할 수 있다. 이런 일련의 노력들로 질환 중심형 인체자원은행들은 자원의 활용도를 높이고 인체유래물 연구를 진행하는 연구 수요자들에게 맞춤형 지원을 할 수 있다.

II. CONCLUSION

구강질환 검체나 구강유래자원을 전문으로 하는 인체자원은행의 부족으로 연구자들은 치의학 분야의 인체유래물 연구를 하는데 어려움이 많았다. 치과병원 기반의 인체자원은행들은 이제 태동기 단계로 연구자들에게 맞춤형 연구 지원을 하기 위해서는 체계적이고 표준화된 자원의 수집과 보관을 할 필요가 있다. 이를 이루기 위해서는 인체자원은행과 더불어 기증을 해주는 임상 의들과 실질적 중개 연구를 진행하는 연구자들과 협력이 체계가 중요하다. 치과병원 기반의 인체자원은행들의 적극적인 활동으로 중개 치의학 연구의 활성화가 기대된다.

ACKNOWLEDGMENTS

This study was supported by the Yonsei University College of Dentistry Fund (6-2020-0037). 이 저서는 2020학년도 연세대학교 치과대학 정책과제연구비의 지원을 받아서 이루어진 것임.

REFERENCES

1. CDC: CDC NCHR Bank Management Law(Due Date 2016, 10. 31.) [CDC Unestablished rule Article 297, 2016. 10. 31., All Revise]. 2016.
2. CDC: Life Ethics and Safety Law(Due Date 2020, 9.12) [Law Article 17472, 2020. 8.11., Another Law Revise]. 2020.
3. CDC: Study on Results and Future Strategy KBB Business, 2017.
4. CDC: KHRB Business 12 Institution New Selection, 2021.
5. Ansari G, Golpayegani MV, Welbury R: Histology and embryology of the teeth and periodontium. Atlas of Pediatric Oral and Dental Developmental Anomalies 2018:13-16.
6. Luder HU: Malformations of the tooth root in humans. Front Physiol 2015;6:307.
7. Laganà G, Venza N, Borzabadi-Farahani A, Fabi F, Danesi C, Cozza P: Dental anomalies: Prevalence and associations between them in a large sample of non-orthodontic subjects, a cross-sectional study. BMC Oral Health 2017;17:62.
8. Gharpure AS, Bhatavadekar NB: Clinical efficacy of tooth-bone graft: A systematic review and risk of bias analysis of randomized control trials and observational studies. Implant Dent 2018;27:119-134.
9. Kim YK, Kim SG, Yun PY: Autogenous teeth used for bone grafting: A comparison with traditional grafting materials. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol 2014;117:e39-45.
10. Khanijou M, Zhang R, Boonsiriset K et al.: Physicochemical and osteogenic properties of chairside processed tooth derived bone substitute and bone graft materials. Dent Mater J 2021;40:173-183.

11. Masarwa N, Mohamed A, Abou-Rabii I, Abu Zaghlan R, Steier L: Longevity of self-etch dentin bonding adhesives compared to etch-and-rinse dentin bonding adhesives: A systematic review. *J Evid Based Dent Pract* 2016;16:96-106.
12. De Munck J, Van Landuyt K, Peumans M: A critical review of the durability of adhesion to tooth tissue: Methods and results. *J Dent Res* 2005;84:118-132.
13. Carvalho TS, Lussi A: Age-related morphological, histological and functional changes in teeth. *J Oral Rehabil* 2017;44:291-298.
14. Andra SS, Austin C, Arora M: Tooth matrix analysis for bio-monitoring of organic chemical exposure: Current status, challenges, and opportunities. *Environ Res* 2015;142:387-406.
15. Wu H, Xu B, Guan Y: A metabolomic study on the association of exposure to heavy metals in the first trimester with primary tooth eruption. *Sci Total Environ* 2020;723:138107.
16. Tvinnereim HM, Eide R, Riise T: Heavy metals in human primary teeth: Some factors influencing the metal concentrations. *Sci Total Environ* 2000;255:21-27.
17. Mosaddad SA, Tahmasebi E, Yazdani A: Oral microbial biofilms: An update. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2019;38:2005-2019.
18. Lamont RJ, Koo H, Hajishengallis G: The oral microbiota: Dynamic communities and host interactions. *Nature reviews, Microbiology* 2018;16:745-759.
19. Barros SP, Williams R, Offenbacher S, Morelli T: Gingival crevicular fluid as a source of biomarkers for periodontitis. *Periodontol 2000* 2016;70:53-64.
20. Velsko IM, Fellows Yates JA, Aron F: Microbial differences between dental plaque and historic dental calculus are related to oral biofilm maturation stage. *Microbiome* 2019;7:102.
21. Valm AM: The structure of dental plaque microbial communities in the transition from health to dental caries and periodontal disease. *J Mol Biol* 2019;431:2957-2969.
22. Tian L, Sato T, Niwa K et al.: PCR-dipstick DNA chromatography for profiling of a subgroup of caries-associated bacterial species in plaque from healthy coronal surfaces and periodontal pockets. *Biomed Res* 2016;37:29-36.
23. Almståhl A, Wikström M, Fagerberg-Mohlin B: Microflora in oral ecosystems in subjects with radiation-induced hyposalivation. *Oral Dis* 2008;14:541-549.
24. Aas JA, Paster BJ, Stokes LN, Olsen I, Dewhirst FE: Defining the normal bacterial flora of the oral cavity. *J Clin Microbiol* 2005;43:5721-5732.
25. Zijngje V, Van Leeuwen MBM, Degener JE: Oral biofilm architecture on natural teeth. *PLOS One* 2010;5:e9321.
26. Bostanci N, Belibasakis GN: Gingival crevicular fluid and its immune mediators in the proteomic era. *Periodontol 2000* 2018;76:68-84.
27. Papagerakis P, Zheng L, Kim D: Saliva and Gingival Crevicular Fluid (GCF) collection for biomarker screening. *Methods Mol Biol* 2019;1922:549-562.
28. Bui FQ, Almeida-da-Silva CLC, Huynh B: Association between periodontal pathogens and systemic disease. *Biomedical Journal* 2019;42:27-35.
29. Kim J, Amar S: Periodontal disease and systemic conditions: A bidirectional relationship. *Odontology* 2006;94:10-21.
30. Graves DT, Corrêa JD, Silva TA: The oral microbiota is modified by systemic diseases. *J Dent Res* 2018;98:148-156.
31. Kumar PS: Oral microbiota and systemic disease. *Anaerobe* 2013;24:90-93.
32. Zalaf BR, Bringel M, Jorge PK: A biobank of stem cells of human exfoliated deciduous teeth: Overview of applications and developments in Brazil. *Cells Tissues Organs* 2020;209:37-42.
33. Collart-Dutilleul PY, Chaubron F, De Vos J, Cuisinier FJ: Allogenic banking of dental pulp stem cells for innovative therapeutics. *World J Stem Cells* 2015;7:1010-1021.
34. Zeitlin BD: Banking on teeth-Stem cells and the dental office. *Biomedical Journal* 2020;43:124-133.
35. Pittenger MF, Mackay AM, Beck SC: Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. *Science* 1999;284:143-147.
36. Sharpe PT: Dental mesenchymal stem cells. *Development* 2016;143:2273-2280.
37. Al-Habib M, Huang GT: Dental mesenchymal stem cells: Dental pulp stem cells, periodontal ligament stem cells, ap-

- ical papilla stem cells, and primary teeth stem cells-isolation, characterization, and expansion for tissue engineering. *Methods Mol Biol* 2019;1922:59-76.
38. Shi X, Mao J, Liu Y: Pulp stem cells derived from human permanent and deciduous teeth: Biological characteristics and therapeutic applications. *STEM CELLS Translational Medicine* 2020;9:445-464.
 39. Tandon S, Saha R, Rajendran R, Nayak R: Dental pulp stem cells from primary and permanent teeth: Quality analysis. *J Clin Pediatr Dent* 2010;35:53-58.
 40. Ricucci D, Siqueira Jr. JF, Loghin S, Lin LM: Pulp and apical tissue response to deep caries in immature teeth: A histologic and histobacteriologic study. *J Dent* 2017;56:19-32.
 41. Alongi DJ, Yamaza T, Song Y: Stem/progenitor cells from inflamed human dental pulp retain tissue regeneration potential. *Regen Med* 2010;5:617-631.
 42. Tomasello L, Mauceri R, Coppola A: Mesenchymal stem cells derived from inflamed dental pulpal and gingival tissue: A potential application for bone formation. *Stem Cell Res Ther* 2017;8:179.
 43. Zhou LL, Liu W, Wu YM, Sun WL, Dörfer CE, Fawzy El-Sayed KM: Oral mesenchymal stem/progenitor cells: The immunomodulatory masters. *Stem Cells Int* 2020;2020:1327405.
 44. Nakashima M, Iohara K: Mobilized dental pulp stem cells for pulp regeneration: Initiation of clinical trial. *J Endod* 2014;40:S26-32.
 45. Leucht P, Kim JB, Amasha R, James AW, Girod S, Helms JA: Embryonic origin and Hox status determine progenitor cell fate during adult bone regeneration. *Development* 2008;135:2845-2854.
 46. Liu Y, Zheng Y, Ding G: Periodontal ligament stem cell-mediated treatment for periodontitis in miniature swine. *Stem Cells* 2008;26:1065-1073.
 47. Nakashima M, Iohara K, Sugiyama M: Human dental pulp stem cells with highly angiogenic and neurogenic potential for possible use in pulp regeneration. *Cytokine Growth Factor Rev* 2009;20:435-440.
 48. Shuai Y, Ma Y, Guo T: Dental stem cells and tooth regeneration. *Adv Exp Med Biol* 2018;1107:41-52.
 49. Pittenger MF, Discher DE, Péault BM, Phinney DG, Hare JM, Caplan AI: Mesenchymal stem cell perspective: Cell biology to clinical progress. *NPJ Regenerative Medicine* 2019;4:22.
 50. Kessler AT, Bhatt AA: Review of the major and minor salivary glands, Part 1: Anatomy, infectious, and inflammatory processes. *Journal of Clinical Imaging Science* 2018;8:47.
 51. Navazesh M, Kumar SK: Measuring salivary flow: Challenges and opportunities. *J Am Dent Assoc* 2008;139 Suppl:35s-40s.
 52. Gomar-Vercher S, Simón-Soro A, Montiel-Company JM, Almerich-Silla JM, Mira A: Stimulated and unstimulated saliva samples have significantly different bacterial profiles. *PLoS One* 2018;13:e0198021-e0198021.
 53. Humphrey SP, Williamson RT: A review of saliva: Normal composition, flow, and function. *J Prosthet Dent* 2001;85:162-169.
 54. Belstrøm D, Holmstrup P, Bardow A, Kokaras A, Fiehn NE, Paster BJ: Comparative analysis of bacterial profiles in unstimulated and stimulated saliva samples. *J Oral Microbiol* 2016;8:30112.
 55. Mirzaii-Dizgah I, Agha-Hosseini F: Stimulated and unstimulated saliva progesterone in menopausal women with oral dryness feeling. *Clinical Oral Investigations* 2011;15:859-862.
 56. Jasim H, Olausson P, Hedenberg-Magnusson B, Ernberg M, Ghafouri B: The proteomic profile of whole and glandular saliva in healthy pain-free subjects. *Scientific Reports* 2016;6:39073.
 57. Bhattarai KR, Kim HR, Chae HJ: Compliance with saliva collection protocol in healthy volunteers: Strategies for managing risk and errors. *Int J Med Sci* 2018;15:823-831.
 58. Nassar M, Hiraishi N, Islam MS, Otsuki M, Tagami J: Age-related changes in salivary biomarkers. *J Dent Sci* 2014;9:85-90.
 59. Ben-Aryeh H, Shalev A, Szargel R, Laor A, Laufer D, Gutman D: The salivary flow rate and composition of whole and parotid resting and stimulated saliva in young and old healthy subjects. *Biochem Med Metab Biol* 1986;36:260-265.
 60. Denny PC, Denny PA, Klauser DK, Hong SH, Navazesh M,

- Tabak LA: Age-related changes in mucins from human whole saliva. *J Dent Res* 1991;70:1320-1327.
61. Navazesh M, Mulligan RA, Kipnis V, Denny PA, Denny PC: Comparison of whole saliva flow rates and mucin concentrations in healthy Caucasian young and aged adults. *J Dent Res* 1992;71:1275-1278.
 62. Cabras T, Pisano E, Boi R: Age-dependent modifications of the human salivary secretory protein complex. *J Proteome Res* 2009;8:4126-4134.
 63. Miller SM: Saliva testing-A nontraditional diagnostic tool. *Clin Lab Sci* 1994;7:39-44.
 64. Lee JM, Garon E, Wong DT: Salivary diagnostics. *Orthodontics & Craniofacial Research* 2009;12: 206-211.
 65. Pfaffe T, Cooper-White J, Beyerlein P, Kostner K, Punyadeera C: Diagnostic potential of saliva: Current state and future applications. *Clin Chem* 2011;57: 675-687.
 66. Gröschl M: The physiological role of hormones in saliva. *Bioessays* 2009;31:843-852.
 67. Malamud D: Saliva as a diagnostic fluid. *Dent Clin N Am* 2011;55:159-178.
 68. Chiappin S, Antonelli G, Gatti R, De Palo EF: Saliva specimen: A new laboratory tool for diagnostic and basic investigation. *Clinica Chimica Acta* 2007;383:30-40.
 69. Javaid MA, Ahmed AS, Durand R, Tran SD: Saliva as a diagnostic tool for oral and systemic diseases. *Journal of Oral Biology and Craniofacial Research* 2016;6:66-75.
 70. Liu J, Duan Y: Saliva: A potential media for disease diagnostics and monitoring. *Oral Oncol* 2012;48:569-577.
 71. Roi A, Rusu LC, Roi CI, Luca RE, Boia S, Munteanu RI: A new approach for the diagnosis of systemic and oral diseases based on salivary biomolecules. *Dis Markers* 2019;2019:8761860.
 72. Kaczor-Urbanowicz KE, Martin Carreras-Presas C, Aro K, Tu M, Garcia-Godoy F, Wong DT: Saliva diagnostics-Current views and directions. *Exp Biol Med (Maywood)* 2017;242:459-472.
 73. Guerin JS, Murray DW, McGrath MM, Yuille MA, McPartlin JM, Doran PP: Molecular medicine ireland guidelines for standardized biobanking. *Biopreserv Biobank* 2010;8:3-63.
 74. Koppikar P: A simple method for extraction of high molecular weight genomic DNA from buccal cells in mouthwash. *Indian J Biotechnol* 2006;5:477-481.
 75. García-Closas M, Egan KM, Abruzzo J: Collection of genomic DNA from adults in epidemiological studies by buccal cyto-brush and mouthwash. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2001;10:687-696.
 76. Lim Y, Fukuma N, Totsika M, Kenny L, Morrison M, Punyadeera C: The performance of an oral microbiome biomarker panel in predicting oral cavity and oropharyngeal cancers. *Front Cell Infect Microbiol* 2018;8.
 77. Yano Y, Hua X, Wan Y: Comparison of oral microbiota collected using multiple methods and recommendations for new epidemiologic studies. *American Society for Microbiology* 2020;5:e00156-00120.
 78. Omori M, Kato-Kogoe N, Sakaguchi S et al.: Comparative evaluation of microbial profiles of oral samples obtained at different collection time points and using different methods. *Clinical Oral Investigations*, 2020.
 79. Willis JR, Gabaldón T: The human oral microbiome in health and disease: From sequences to ecosystems. *Microorganisms* 2020;8:308.
 80. Caselli E, Fabbri C, D'Accolti M: Defining the oral microbiome by whole-genome sequencing and resistome analysis: The complexity of the healthy picture. *BMC Microbiology* 2020;20:120.
 81. SRP: Mass Human Resource Application Project Paln Study. 2015.
 82. Hegde M, Hegde P, M,D'souza D: Tooth stem cell banking-A review. *IJRRPAS* 2012;2:423-428.
 83. Perry BC, Zhou D, Wu X: Collection, cryopreservation, and characterization of human dental pulp-derived mesenchymal stem cells for banking and clinical use. *Tissue engineering, Part C, Methods* 2008;14:149-156.
 84. Woods EJ, Perry BC, Hockema JJ, Larson L, Zhou D, Goebel WS: Optimized cryopreservation method for human dental pulp-derived stem cells and their tissues of origin for banking and clinical use. *Cryobiology* 2009;59:150-157.
 85. Kaku M, Kamada H, Kawata T: Cryopreservation of perio-

- dental ligament cells with magnetic field for tooth banking. *Cryobiology* 2010;61:73-78.
86. Oh YH, Che ZM, Hong JC, Lee EJ, Lee SJ, Kim J: Cryopreservation of human teeth for future organization of a tooth bank-A preliminary study. *Cryobiology* 2005;51:322-329.
 87. Papaccio G, Graziano A, D'Aquino R: Long-term cryopreservation of dental pulp stem cells (SBP-DPSCs) and their differentiated osteoblasts: A cell source for tissue repair. *J Cell Physiol* 2006;208:319-325.
 88. Miranda-Rius J, Brunet-Llobet L, Lahor-Soler E, Farré M: Salivary secretory disorders, inducing drugs, and clinical management. *International Journal of Medical Sciences* 2015;12:811-824.
 89. Dawes C: Circadian rhythms in human salivary flow rate and composition. *The Journal of Physiology* 1972;220:529-545.
 90. Gandara BK, Leresche L, Mancl L: Patterns of salivary estradiol and progesterone across the menstrual cycle. *Ann NY Acad Sci* 2007;1098:446-450.
 91. Saleh J, Figueiredo MA, Cherubini K, Salum FG: Salivary hypofunction: An update on aetiology, diagnosis and therapeutics. *Arch Oral Biol* 2015;60: 242-255.
 92. Chiappin S, Antonelli G, Gatti R, De Palo EF: Saliva specimen: a new laboratory tool for diagnostic and basic investigation. *Clin Chim Acta* 2007;383:30-40.
 93. Navazesh M, Kumar SKS: Measuring salivary flow: Challenges and opportunities. *The Journal of the American Dental Association* 2008;139:35S-40S.
 94. Pramanik R, Thompson H, Kistler JO et al.: Effects of the UK Biobank collection protocol on potential biomarkers in saliva. *Int J Epidemiol* 2012;41:1786 -1797.
 95. Kennedy B, Dillon E, Mills PJ, Ziegler MG: Catecholamines in human saliva. *Life Sciences* 2001;69:87-99.
 96. Morris M, Cohen B, Andrews N, Brown D: Stability of total and rubella-specific IgG in oral fluid samples: The effect of time and temperature. *J Immunol Methods* 2002;266:111-116.
 97. Lu YC, Chatterton RT, Vogelsong KM, May LK: Direct radioimmunoassay of progesterone in saliva. *J Immunoassay* 1997;18:149-163.
 98. Janardhanam SB, Zunt SL, Srinivasan M: Quality assessment of saliva bank samples. *Biopreserv Biobank* 2012;10:282-287.
 99. Woo JS, Lu DY: Procurement, transportation, and storage of saliva, buccal swab, and oral wash specimens. In: Yong WH, editor. *Biobanking: Methods and protocols*. New York, NY: Springer New York, 2019:99-105.
 100. Ryan MJ, Schloter M, Berg G: Development of microbiome biobanks-Challenges and opportunities. *Trends in Microbiology*, 2020.
 101. Hiergeist A, Gläsner J, Reischl U, Gessner A: Analyses of intestinal microbiota: Culture versus sequencing. *Ilar J* 2015;56:228-240.
 102. O'Toole PW, Flemer B: From culture to high-throughput sequencing and beyond: A layperson's guide to the "omics" and diagnostic potential of the microbiome. *Gastroenterol Clin North Am* 2017;46:9-17.
 103. Prakash O, Shouche Y, Jangid K, Kostka JE: Microbial cultivation and the role of microbial resource centers in the omics era. *Appl Microbiol Biot* 2013;97:51-62.
 104. Tidjani Alou M, Naud S, Khelaifia S, Bonnet M, Lagier JC, Raoult D: State of the art in the culture of the human microbiota: New interests and strategies. *Clin Microbiol Rev* 2020;34:e00129 -00119.
 105. Wu GD, Lewis JD, Hoffmann C: Sampling and pyrosequencing methods for characterizing bacterial communities in the human gut using 16S sequence tags. *BMC Microbiology* 2010;10:206.
 106. Prakash O, Nimonkar Y, Desai D: A Recent overview of microbes and microbiome preservation. *Indian J Microbiol* 2020;60:297-309.
 107. Welch JLM, Dewhirst FE, Borisy GG: Biogeography of the oral microbiome: The site-specialist hypothesis. *Annu Rev Microbiol* 2019;73: 335-358.
 108. Xian P, Xuedong Z, Xin X: The oral microbiome bank of China. *Int J Oral Sci* 2018;10:16.
 109. Vandeputte D, Tito RY, Vanleeuwen R, Falony G, Raes J: Practical considerations for large-scale gut microbiome studies. *FEMS Microbiol Rev* 2017;41: S154-s167.
 110. Edwards T, Cadigan RJ, Evans JP, Henderson GE: Biobanks

- containing clinical specimens: Defining characteristics, policies, and practices. *Clinical Biochemistry* 2014;47:245-251.
111. Henderson GE, Cadigan RJ, Edwards TP: Characterizing bio-bank organizations in the U.S.: Results from a national survey. *Genome Med* 2013;5:3.
112. Shaw LP, Bassam H, Bames CP, Walker AS, Klein N, Balloux F: Modelling microbiome recovery after antibiotics using a stability landscape framework. *The ISME Journal* 2019;13:1845-1856.
113. Hansen TH, Kern T, Bak EG: Impact of a vegan diet on the human salivary microbiota. *Scientific Reports* 2018;8:5847.
114. Collado MC, Engen PA, Bandín C: Timing of food intake impacts daily rhythms of human salivary microbiota: A randomized, crossover study. *Faseb J* 2018;32:2060-2072.