

근관 삼출액에서의 기질금속단백분해효소-8과 substance P의 수준에 관한 연구

신수정¹ · 이우철² · 이재일³ · 백승호² · 금기연² · 손원준² · 배광식^{2*}¹연세대학교 치과대학 치과보존학교실,서울대학교 치의학 전문대학원 ²치과보존학교실, ³구강병리학교실

ABSTRACT

Matrix metalloproteinase-8 and substance P levels in root canal exudates of nonvital teeth

Su-Jung Shin¹, Woocheol Lee², Jae-Il Lee³, Seung-Ho Baek², Kee-Yeon Kum², Won-Jun Shon², Kwang-Shik Bae^{2*}¹Department of Conservative Dentistry, College of Dentistry, Yonsei University,²Department of Conservative Dentistry, Dental Research Institute, ³Department of Oral Pathology, School of Dentistry, Seoul National University, Seoul, Korea**Objectives:** The aim of this study was to investigate levels of matrix metalloproteinase-8 (MMP-8) and substance P (SP) in root canal exudates during root canal treatment (RCT) of nonvital, painful teeth.**Materials and Methods:** Patients scheduled for nonsurgical RCT were prospectively selected; the study was performed after obtaining informed consent from the patients and was approved by the Institutional Review Board for Clinical Research of Gangnam Severance Hospital, Yonsei University (3-2008-0118). Canal exudates samples were collected using sterilized paper points from teeth scheduled for RCT across three different time periods. MMP-8 and SP levels were measured using enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Data were analyzed using a mixed model analysis and the Pearson correlation analysis ($p < 0.05$).**Results:** MMP-8 and SP levels in GCF were decreased during RCT ($p < 0.0001$), and they showed a weak positive correlation to each other ($p < 0.05$). Patients' subjective pain levels and the response from percussion test were significantly related to SP level.**Conclusions:** This study demonstrated that periradicular inflammation endodontic origin can elevate SP and MMP-8 levels in root canal exudates. Interestingly, SP level of canal exudates showed a possibility of being used as an indicator of pain due to periapical pathosis. [J Kor Acad Cons Dent 2011;36(3):196-202.]**Key words:** Canal exudate; MMP-8; SP; Pain

-Received 10 March 2011; revised 4 April 2011; accepted 4 April 2011-

서 론

치수괴사 혹은 이전에 근관치료를 받은 치아에 잔존하는

세균과 그 부산물은 치근단 조직에 염증반응을 일으키는데 이 과정에서 여러 가지 염증의 매개물질-예를 들어 cytokine이나 prostaglandin E2, neuropeptides, 그리고

¹Shin SJ, DDS, MS, Assistant Professor, Department of Conservative Dentistry, Yonsei University College of Dentistry²Lee WC, DDS, PhD, Associate Professor; Baek SH, DDS, PhD, Associate Professor; Kum KY, DDS, PhD, Associate Professor; Shon WJ, DDS, PhD, Assistant Professor; Bae KS, DDS, MDS, PhD, Professor, Department of Conservative Dentistry, Seoul National University School of Dentistry and Dental Research Institute³Jae-Il Lee, DDS, MDS, PhD, Professor, Department of Oral Pathology, Seoul National University School of Dentistry, Seoul, Korea***Correspondence to Kwang-Shik Bae, DDS, MDS, PhD.**

Professor, Department of Conservative Dentistry, Seoul National University School of Dentistry and Dental Research Institute, 28-2 Yeongeondong, Jongro-gu, Seoul, Korea 110-749

TEL, +82-2-2072-2651; FAX, +82-2-764-3859; E-mail, baeks@snu.ac.kr

* 본 연구는 연세대학교 치과대학 2008년도 교수연구비에 의하여 이루어졌음(2008-005).

기질단백분해효소(matrix metalloproteinases, MMPs) 등이 분비되고 상호연관성을 가지게 된다.¹

치주염이 있을 때 치은 열구액을 통해서 분비되는 neuropeptides나 기질금속 단백질분해효소(matrix metalloproteinases, MMPs)에 대한 연구는 오랫동안 진행되어 왔으며 과거의 연구를 통해서 치주질환이 존재하는 경우 substance P (SP)나 MMP-8의 농도가 더 높은 것으로 알려져 있다.²⁻⁴

Neuropeptides는 여러 종류의 염증세포에 작용하여 염증반응을 조절하게 되는데 그 중 SP immunoreactive nerve는 치은조직, 치주인대 등에서 발견되며 혈관에 분포한 감각신경의 말단에서 분비되는 것으로 알려져 있다.⁴ 치근단 조직에서 발생하는 염증반응에 관여하는 요소 중 세포외 기질(extracellular matrix)의 파괴와 생성에 관여하는 MMPs는 많은 연구자들이 관심을 갖는 연구대상이 되어왔다. 그 중 MMP-8은 교원질 분해효소(collagenase)로서 주로 다형핵백혈구에서 분비되는 것으로 생각되었으나 최근 들어서는 치수세포 및 plasma cell 등에서도 분비되는 것으로 알려졌으며^{5,6} 치수의 염증이 있을 때 치은 열구액에서 분비가 증가하는 것으로 보고되고 있다.^{7,8}

Avellan 등의 연구에 의하면 정상적인 치아에 전기치수 자극을 가했을 때, 즉 통증을 유발하게 되면, 해당치아의 치은 열구액에서 MMP-8과 substance P (SP)의 수준이 높게 검출되었음을 보고하였다. 이들은 전기치수자극에 의해서 신경섬유가 자극을 받고 이로부터 neuropeptide가 분비되며 이는 직, 간접적으로 MMP-8의 분비를 증진시키는 것으로 추론하였다.⁷ Awawdeh 등도 치수염으로 통증이 있는 치아에서 치수를 제거하기 전과 치수절제술을 시행한 후 1주일 이 경과했을 때 치은 열구액을 통해서 검출되는 neuropeptides의 양을 비교했을 때 통증이 있는 경우 SP, neurokinin A (NKA), calcitonin gene-related peptide (CGRP)가 유의성 있게 높은 수준으로 나타났음을 보고하였다.⁸

Wahlgren 등은 치수 및 치근단 병소가 있는 치아에서 근관 치료 과정에서 근관 내의 삼출액을 채취하여 MMP-8의 수준을 연구하였는데 근관치료를 시작하기 전에 유의성 있게 높다가 근관치료를 진행하면서 MMP-8이 급격히 감소함을 보고하였다.⁹

이러한 기존의 연구들을 배경으로 치수괴사, 혹은 이전의 근관 치료 실패로 인하여 치근단 병소가 있는 치아의 근관 치료를 전후로 채취한 근관 삼출액에서 검출되는 MMP-8과 SP의 양을 측정하여 근관병소와 이들간의 상관관계를 고찰하는 것을 본 연구의 목적으로 한다.

연구재료 및 방법

환자선정

2008년 9월 24일부터 2009년 9월 24일까지 연세대학교 강남세브란스 치과병원 치과보존과에 근관치료를 받기 위해서 내원한 환자를 대상으로 연구를 시행하였다. 연구에 참여한 환자들의 평균연령은 43.8세로 25명, 35개 치아를 대상으로 하였다. 모든 환자들에게 연구의 취지와 방법 등을 설명하고 사전동의를 얻었으며 실험과정은 연세대학교 강남세브란스병원 임상연구위원회(Institutional Review Board for Clinical Research of Gangnam Severance Hospital, Yonsei University)의 승인을 얻어서 진행하였다(3-2008-0118). 대상치아는 치수괴사가 있거나 이전에 근관치료가 되어있던 치아로 선정하였으며 환자가 의사표현을 할 수 없거나, 심각한 전신질환이 있는 경우, 중등도 이상의 치주질환이 있는 경우 그리고 최근 1주일 이내에 항생제를 복용한 경우는 대상에서 제외하였다.

치은 열구액의 채취

실험군은 근관치료를 하는 치아를 대상으로 하여 근관 치료 시작 시, 두 번째 내원, 세 번째 내원시에 각각 3회 샘플링을 시행하였다. 치료할 치아에 국소마취 후 러버댐으로 치아를 격리하였으며 근관 와동 형성 후 상부는 게이즈글리든 버(Dentsply Maillefer, Ballaigues, Switzerland) #4, 3, 2의 순서로 근관 입구를 넓힌 후 식염수로 잘 세척하고 근관장까지 최소 0.06 taper #30번 ProFile (Dentsply Maillefer, Ballaigues, Switzerland)로 확장하였다. 근관 내부를 최종적으로 식염수 1 mL로 세척한 후 medium size의 paper point를 이용해서 근관을 건조시켰다. 삼출액 채취를 위해 paper point한 개를 근관장까지 삽입하고 1분간 기다린 후 빼내고 근관에 다시 paper point를 새로 넣고 추가로 1분을 더 기다려서 근관 내 삼출액을 채취한 후 하나의 tube에 근관 내 삼출물을 포함한 두 개의 paper point를 넣고 이후의 분석에 사용하였다. 근관 삼출물을 채취한 후에는 3% 차아염소산 나트륨을 근관세척에 이용하고 모든 근관은 최소 35번 이상으로 확대하고 근관을 건조시킨 후 상부를 Caviton (GC Co., Tokyo, Japan)으로 임시 가봉하였다. 두 번째, 세 번째 내원 시에는 역시 마취 후 러버댐하고 임시 가봉재를 제거한 후 근관 중간부위(근관장에서 5 mm부위 상방)까지 1 mL의 식염수로 세척하고 paper point로 건조하고 샘플 채취를 위해서 medium size의 paper point를 근관장까지 삽입하였으며, 첫날 삼출물을 채취한 것과 동일한 기준을 사용하였다. 치료 후 다음 번 내원까지의 기간은 2주 간격으로 하였으며 늦어도

3주 이내에는 치료를 진행하는 것으로 하였다. 통상적으로 두 번째 내원 시에는 근관세척을 시행하고, 세 번째 내원 시 열가소성 충전법을 이용한 근관충전을 시행하였다. 근관내 삼출액이 검출되지 않는 경우는 data missing으로 표기하고 추후 통계분석에 반영하였다.

삼출액을 채취한 paper point를 보관하는 Eppendorf tube에 100 μ L Tris-HCL buffer (pH 7.5, 0.15 M NaCl and 1 mM $CaCl_2$ 포함)를 넣어서 paper point를 넣은 후 3시간 동안 상온에서 shaker상에서 흔들여 준 후 영하 70도에 보관하였다.

환자의 주관적인 통증평가

Visual Analogue Scale (VAS)을 이용하여 환자에게 통증이 전혀 없는 경우 0으로, 최대한으로 극심한 통증을 느끼는 경우 10으로 표시하도록 하였으며 두 번째, 세 번째 내원 시에도 치료 시작 전 문진을 통하여 수치를 기록하였다.

임상검사

통상적으로 치수와 치근단의 상태를 평가하는 검사를 초진 시에 시행하였으며 MMP-8 및 SP와 임상증상간의 상관관계를 조사하기 위하여 샘플채취 전 타진검사(0: 무증상, +: 미약한 느낌, ++: 중등도의 통증, +++: 극심한 통증), 동요도 검사(0: 동요도 없음, 1: 미약한 수평동요도, 2: 중등도에서 심한 수평동요도, 3: 수직적인 동요도)를 시행하였다. 또한 누공의 존재여부(+: 누공이 있음, -: 누공이 없음)를 기록하였다.

MMP-8분석

MMP-8의 정량분석은 ELISA kit (Quantikine, R&D Systems Inc., Minneapolis, MN, USA)를 사용하였으며 MMP-8의 total amount를 측정하였다. 실험은 제조사의 지시에 따라 이루어졌는데 먼저 20배로 희석한 샘플을 준비하고 샘플과 표준(standards)의 각각을 50 μ L씩 96 well plate에 적용하고 MMP-8 antibody를 적용하였다. 각각의 샘플은 두 번 중복실험을 시행하였다. 2시간 동안 실온에서 shaker를 이용해서 plate를 수평으로 진동한 후 4회 수세하고 다시 200 μ L의 conjugate를 넣고 다시 2시간 동안 상온에서 진동하였다. 4회의 수세 후 200 μ L의 substrate solution을 첨가하고 30분간 상온에서 빛을 차단하고 기다린 후 50 μ L의 stop solution을 넣고 spectrophotometer (ELISA reader, Molecular Devices Inc/E-max, Washington, DC, USA)를 이용하여 450 nm에서 흡광도를 측정하였다. 결과는 샘플당 총 ng으로 표시하였다.

SP 분석

SP의 정량분석은 ELISA kit (A competitive enzyme immunoassay kit, Parameter, R&D Systems Inc., Minneapolis, MN, USA)를 제조사의 지시에 따라서 사용하였다. 20배 희석한 샘플과 표준(standards)을 50 μ L씩 넣고 antibody와 conjugate를 넣은 후 3시간 동안 실온에서 흔들여주었다. 4회 세척한 후 substrate를 첨가하고 30분 후 다시 4회 세척하고 stop solution을 넣고 450 nm에서 흡광도를 측정하였다. 결과는 샘플당 총 pg으로 표시하였다.

통계분석

같은 환자에서 2주 간격으로 3회 측정된 결과는 mixed model analysis를 이용하여 분석하였다. 먼저 환자의 치료 시점이 달라짐에 따라서 MMP-8과 SP의 수준이 변화하는지를 분석하였으며, 각 시점에서 MMP-8과 SP가 서로 상관관계를 갖는지는 Pearson correlation coefficient를 구하여 평가하였다. 그리고 환자가 느끼는 통증 정도에 따라 MMP-8, SP의 수준이 유의성 있는 차이를 보이는지를 분석하였다. 마찬가지로 타진검사, 동요도 검사 그리고 누공의 존재여부가 MMP-8과 SP수준에 영향을 주는지 평가하였다.

치료를 시작하기 전 단계에서 통증이 있었던 치아(VAS = 0)와 그렇지 않았던 치아(VAS > 0)를 두 군으로 나누어 MMP-8과 SP의 양을 Student t-test로 비교하였다. 모든 분석에 있어서 p값이 0.05 미만일 때 통계적으로 유의하다고 간주하였다. 이상의 통계분석에는 SAS (version 9.1.3, SAS institute Inc., Cary, NC, USA)가 이용되었다.

결 과

각각 실험 군에서 MMP-8과 SP의 양의 변화 패턴은 Figure 1에 표시하였다. Mixed model에 의해서 얻어진 각 채취시점에 따른 estimate와 standard error는 Figure 2에 표시하였다. MMP-8, SP모두 치료가 진행되면서 추정값이 감소하는 양상을 보였는데 치료시점에 따라서 MMP-8, SP 모두 유의성 있는 차이를 보였다($p < 0.0001$). 각 시점에서 MMP-8과 SP의 상관관계는 모두 약한 정도의 양의 상관관계(Pearson correlation coefficient는 각각 0.44302, 0.4089, 0.46955)를 보이고 이 수치는 모두 통계학적으로 유의성 있는 것으로 나타났다(p -value는 각각 0.0077, 0.0224, 0.0117) (Figure 3).

환자가 느끼는 통증 정도에 따라 MMP-8는 유의성 있게 변화하지 않았지만($p = 0.3893$) SP의 발현수준과는 통계

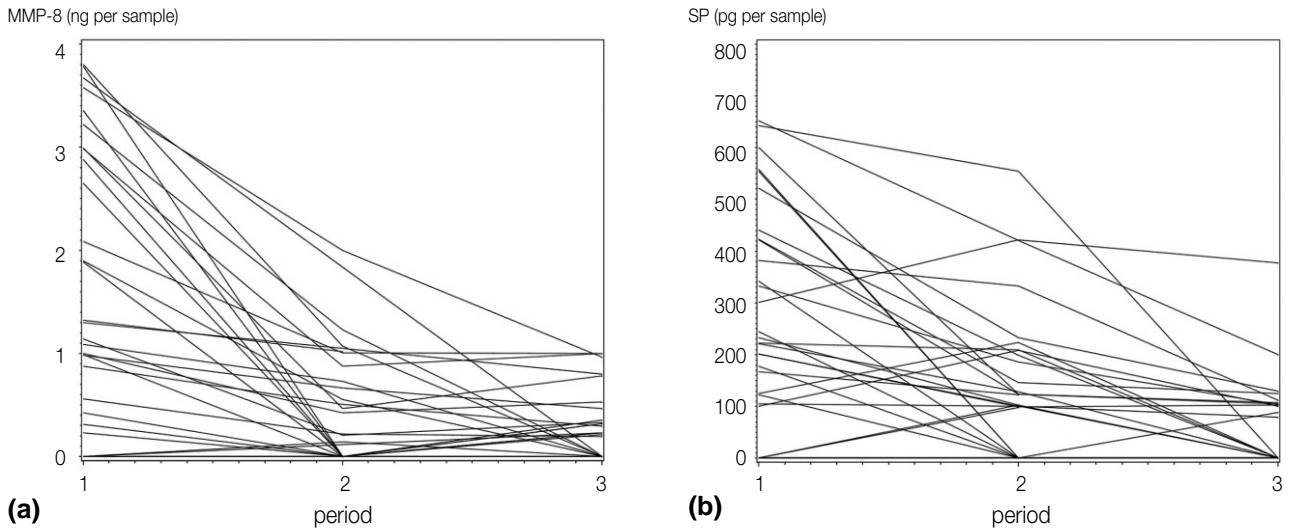


Figure 1. The amount of MMP-8 and SP from individual samples.

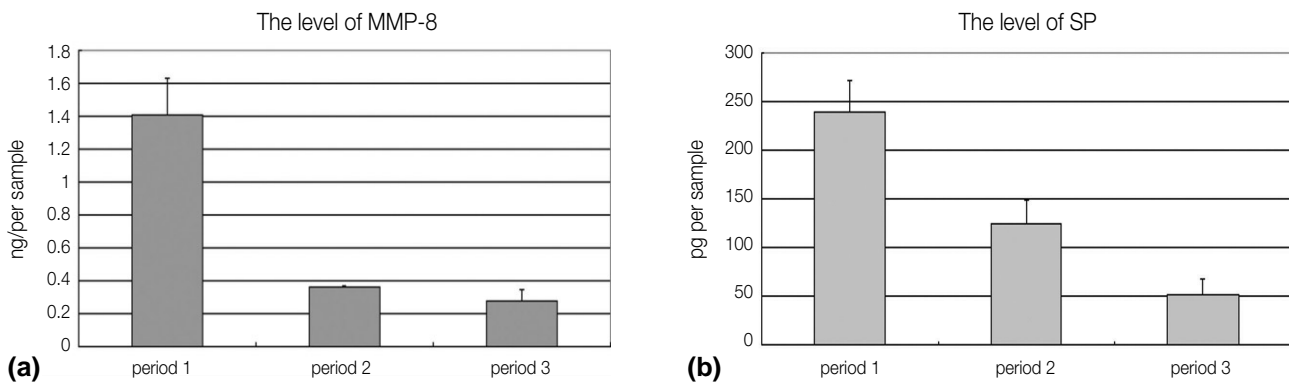


Figure 2. Corrected estimates and standard errors of MMP-8 and SP levels in the experimental group. A mixed model was used for adjusting patients' pain level.

학적으로 유의성 있는 차이를 보였다($p = 0.0313$). 타진 반응에 통증을 느끼는 정도와 MMP-8, SP의 수준도 마찬가지로 MMP-8의 경우 통계적으로 유의성이 없었으며($p = 0.1043$), SP의 경우 통계적 유의성이 발견되었다($p = 0.0075$). 치아 동요도나 누공의 존재유무는 MMP-8, SP의 발현 정도와 유의성 있는 차이가 없는 것으로 나타났다.

마지막으로 치료시작 전 통증이 전혀 없었던 군과 통증이 존재하는 군으로 나누어서 MMP-8, SP수준이 차이가 있는가를 분석한 결과에 따르면 MMP-8의 경우 유의성 있는 차이가 없었으며($p = 0.061$), SP의 경우 유의성 있는 차이가 있었다($p < 0.0001$).

총괄 및 고안

본 연구를 통해서 근관 내에 살아있는 치수가 없는 경우, 즉 치수괴사나 재근관치료의 증례에서 근관 내의 자극원이 존재하여 유발된 치근단 염증의 경우 근관치료를 진행함에 따라서, 즉 근관 내의 자극원이 줄어들게 되면서 MMP-8과 SP의 양이 급격하게 감소함을 알 수 있었다. 흥미로운 발견은 SP의 경우 검출된 양이 환자가 느끼는 통증의 정도와 타진반응에의 민감성과 직접적으로 관련이 있는 것으로 나타난 반면, MMP-8의 경우 통계적인 유의성을 보이지 않았다. 그러나 각각의 샘플채취 시점에서 SP와 MMP-8이 양의 상관관계가 있음을 보이는 것으로 나타났다.

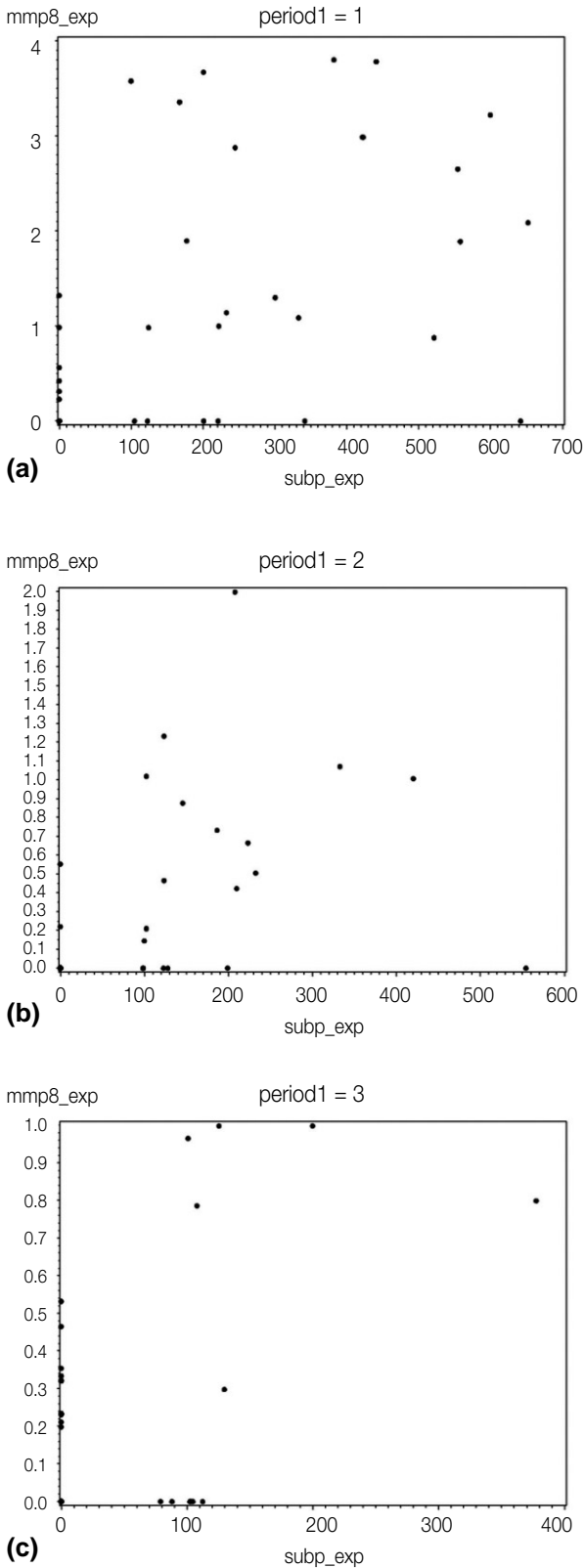


Figure 3. Scatter plot of MMP-8 and SP at each period. (a) At first visit, (b) At second visit, (c) At third visit.

이번 연구의 통계분석은 mixed model을 사용했는데 이 방법은 각각의 치아에 대해서 연속적인 3회의 삼출액 채취가 이루어지는 연구의 디자인을 고려하여 각각 얻은 수치를 채취시점과 통증수준 등을 선택적으로 보정할 수 있는 장점이 있어서 이용되었다.

기존에 근관 내에서 채취한 삼출액을 이용한 세균학적인 연구는 많이 진행되어 왔으나 MMP나 neuropeptide를 검출한 연구는 그다지 많지 않다. 이번 실험을 통해서 얻은 결과는 Wahlgrene 등의 연구에서와 비슷하게 나타났다.⁹ 다만 Wahlgrene 등의 연구에서는 내원 사이에 근관 내에 수산화칼슘 약제를 첨약하였으나 본 연구에서는 따로 수산화칼슘재제를 사용하지 않았다. 이는 본 실험 전 시행한 예비 실험을 통하여 근관 내에 수산화칼슘재제를 사용했을 때 이후 샘플채취 과정에서 수산화칼슘을 완전히 제거하는 것이 불가능한 것으로 관찰되었으며 수산화칼슘을 사용하지 않기로 함에 따라 가능하면 근관치료 첫날 근관세정과 형성을 최대한 진행하는 것으로 실험방법을 수정하였다.

근관 삼출액을 채취하는 과정에서 농이 배출되거나 초기 근관장 설정이 정확하지 않아서 paper point에 혈액이 묻어 나오는 경우는 실험대상에서 제외시켰다.

실험을 진행하면서 한계점은 근관내 삼출액이 적어서 paper point에 검출되지 않았던 근관이 있어서 이때 data missing으로 처리했는데 결과적으로 삼출액을 채취할 당시에 paper point에 묻어 나오는 액이 없는 것인지 근관에 삼출액이 전혀 없는 것인지 감별은 불가능하였다. 미량의 식염수를 근관내에 넣고 paper point로 그 액체를 흡수시켜 미량의 삼출액이라도 채취하는 방법을 사용하는 것이 추후 data missing을 최소화 할 수 있는 방법이 될 것으로 사료된다.

근관 삼출액의 정량을 구해서 MMP-8과 SP의 농도를 구하는 대신 이번 연구에서는 샘플에 포함된 총농도로 표시하였다. 주어진 시간 동안 채취된 삼출액을 각 근관마다 비교하는 것이 본 실험의 취지에 더 부합한다고 판단되었기 때문이다. 앞서 언급한 Wahlgrene 등의 연구⁹에서는 1개의 paper point를 2분간 근관 내에 넣었다가 실험에 사용했는데 각각 삼출액에 대한 정량은 따로 언급되어 있지 않았다. 치은 열구액을 이용한 비슷한 연구들에서도 채취된 시료의 부피나 무게를 측정하고 MMP 등 염증성 매개물의 농도를 산출하다 보면 관찰하고자 하는 대상이 오히려 희석된 값으로 구해진다는 추론이 있어왔다. 따라서 몇몇 연구들에서는 본 실험과 같이 일정시간 동안 채취된 샘플에서의 MMP의 총량을 구하거나 치은열구를 같은 양의 완충액으로 씻어내서 그 액에 들어있는 MMP의 양을 분석하는 wash method를 이용하였다.^{4,10}

본 실험에서는 MMP-8과 SP의 정량분석을 위해서 ELISA kit를 이용하였는데 여러 개의 샘플을 분석하면서

또한 같은 샘플을 희석하여 MMP-8과 SP의 분석에 동시에 사용할 수 있는 이점이 있었다.

MMP-8의 분석에는 여러 가지 방법이 이용되어 왔다.^{2,11-16} A time resolved immunofluorometric assay (IFMA), ELISA 그리고 a dentoAnalyzer device 등을 이용해서 MMP-8을 분석해 본 결과 방법에 상관없이 일치하는 결과를 보였다는 연구도 있었지만,¹⁶ ELISA의 경우 다른 방법들과는 다른 종류의 antibody를 사용하게 되어서 조금 다른 결과를 보일 수도 있다고 보고되기도 했다.¹⁷ 치주영역에서는 치은 열구액을 채취하여 chair-side에서 MMP-8의 농도를 측정하여 진단에 이용할 수 있는 기구가 개발되어 있다.¹⁴ 향후 치수질환 및 치수질환으로 인한 치근단질환의 진단에도 이러한 진단도구가 이용될 가능성이 있을 것이다. 본 연구의 결과를 토대로 근관 내에 감염이 있고 이로 인해 치근단 염증이 있는 경우 근관 치료 전에 높게 나타난 MMP-8과 SP의 양이 근관치료를 함으로 점차 감소됨을 알 수 있었고 MMP-8과 SP는 상관관계가 있는 것으로 나타났다. 통증의 정도와 SP의 발현되는 양은 통계적으로 유의한 차이가 있었는데 이는 추후에 근관 치료 과정 중에 지속되는 통증을 감별하기 위한 진단도구로 사용될 수 있는 가능성을 시사한다.

REFERENCES

- Heyeraas KJ, Kvinnsland I, Byers MR, Jacobsen EB. Nerve fibers immunoreactive to protein gene product 9.5, calcitonin gene-related peptide, substance P, and neuropeptide Y in the dental pulp, periodontal ligament, and gingiva in cats. *Acta Odontol Scand* 1993; 51:207-221.
- Ağan S, Sönmez S, Serdar M. The effect of topical doxycycline usage on gingival crevicular fluid MMP-8 levels of chronic and aggressive periodontitis patients: a pilot study. *Int J Dent Hyg* 2006;4:114-121.
- Biyikoğlu B, Buduneli N, Kardeşler L, Aksu K, Pitkala M, Sorsa T. Gingival crevicular fluid MMP-8 and -13 and TIMP-1 levels in patients with rheumatoid arthritis and inflammatory periodontal disease. *J Periodontol* 2009;80:1307-1314.
- Hanioka T, Takaya K, Matsumori Y, Matsuse R, Shizukuishi S. Relationship of the substance P to indicators of host response in human gingival crevicular fluid. *J Clin Periodontol* 2000;27:262-266.
- Hanemaaijer R, Sorsa T, Konttinen YT, Ding Y, Sutinen M, Visser H, van Hinsbergh VW, Helaakoski T, Kainulainen T, Rönkä H, Tschesche H, Salo T. Matrix metalloproteinase-8 is expressed in rheumatoid synovial fibroblasts and endothelial cells. Regulation by tumor necrosis factor- α and doxycycline. *J Biol Chem* 1997;272:31504-31509.
- Palosaari H, Wahlgren J, Larmas M, Rönkä H, Sorsa T, Salo T, Tjäderhane L. The expression of MMP-8 in human odontoblasts and dental pulp cells is down-regulated by TGF- β 1. *J Dent Res* 2000;79:77-84.
- Avellan NL, Sorsa T, Tervahartala T, Mäntylä P, Forster C, Kempainen P. Painful tooth stimulation elevates matrix metalloproteinase-8 levels locally in human gingival crevicular fluid. *J Dent Res* 2005;84:335-339.
- Awawdeh LA, Lundy FT, Linden GJ, Shaw C, Kennedy JG, Lamey PJ. Quantitative analysis of substance P, neurokinin A and calcitonin gene-related peptide in gingival crevicular fluid associated with painful human teeth. *Eur J Oral Sci* 2002;110:185-191.
- Wahlgren J, Salo T, Teronen O, Luoto H, Sorsa T, Tjäderhane L. Matrix metalloproteinase-8 (MMP-8) in pulpal and periapical inflammation and periapical root canal exudates. *Int Endod J* 2002;35:897-904.
- Figueredo CM, Areas A, Miranda LA, Fischer RG, Gustafsson A. The short-term effectiveness of non-surgical treatment in reducing protease activity in gingival crevicular fluid from chronic periodontitis patients. *J Clin Periodontol* 2004;31:615-619.
- Apajalahti S, Sorsa T, Railavo S, Ingman T. The *in vivo* levels of matrix metalloproteinase-1 and -8 in gingival crevicular fluid during initial orthodontic tooth movement. *J Dent Res* 2003;82:1018-22.
- Emingil G, Afacan B, Tervahartala T, Töz H, Atilla G, Sorsa T. Gingival crevicular fluid and serum matrix metalloproteinase-8 and tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-1 levels in renal transplant patients undergoing different immunosuppressive therapy. *J Clin Periodontol* 2008;35:221-229.
- Ingman T, Tervahartala T, Ding Y, Tschesche H, Haerian A, Kinane DF, Konttinen YT, Sorsa T. Matrix metalloproteinases and their inhibitors in gingival crevicular fluid and saliva of periodontitis patients. *J Clin Periodontol* 1996;23:1127-1132.
- Mäntylä P, Stenman M, Kinane DF, Tikanoja S, Luoto H, Salo T, Sorsa T. Gingival crevicular fluid collagenase-2 (MMP-8) test stick for chair-side monitoring of periodontitis. *J Periodontol Res* 2003;38:436-439.
- Okuda K, Miyazaki A, Momose M, Murata M, Nomura T, Kubota T, Wolff LF, Yoshie H. Levels of tissue inhibitor of metalloproteinases-1 and matrix metalloproteinases-1 and -8 in gingival crevicular fluid following treatment with enamel matrix derivative (EMDO-GAIN). *J Periodontol Res* 2001;36:309-316.
- Passoja A, Ylipalosaari M, Tervonen T, Raunio T, Knuutila M. Matrix metalloproteinase-8 concentration in shallow crevices associated with the extent of periodontal disease. *J Clin Periodontol* 2008;35:1027-1031.
- Munjal SK, Prescher N, Struck F, Sorsa T, Maier K, Netuschil L. Evaluation of immunoassay-based MMP-8 detection in gingival crevicular fluid on a point-of-care platform. *Ann N Y Acad Sci* 2007;1098:490-492.

국문초록

근관 삼출액에서의 기질금속단백분해효소-8과 substance P의 수준에 관한 연구

신수정¹ · 이우철² · 이재일³ · 백승호² · 금기연² · 손원준² · 배광식^{2*}

¹연세대학교 치과대학 치과보존학교실,
서울대학교 치의학 전문대학원 ²치과보존학교실, ³구강병리학교실

연구목적: 근관 치료를 전후로 근관 삼출액을 추출하여 MMP-8과 SP의 양을 측정하고 근관 치료에 따른 변화 및 이들간이 상관관계를 보는 것을 본 연구의 목적으로 하였다.

연구 재료 및 방법: 치수괴사, 혹은 이전 근관 치료 후 치근단 병소가 있어서 근관 치료가 예정된 35개의 치아를 대상으로 하였으며, 근관 치료 첫날, 2주 후, 4주 후 paper point를 이용하여 근관 삼출액을 채취하였다. MMP-8과 SP의 양은 enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)를 이용하여 정량 하였다. 삼출액의 채취 시점에 따른 MMP-8, SP 양의 변화 및 환자의 통증 정도, 임상증상에 따른 MMP-8, SP의 변화는 mixed model을 이용하여 통계 분석하였으며 MMP-8과 SP의 상관관계는 Pearson correlation coefficient를 구하여 분석하였다($p < 0.05$).

결과: 근관치료가 진행됨에 따라 MMP-8, SP의 양은 유의성 있게 감소하였으며($p < 0.0001$), 환자의 통증이나 타진검사 시 반응이 SP의 발현에 영향을 주는 것으로 나타났다. MMP-8의 경우 SP와 미약한 양의 상관관계가 있었지만 환자의 증상이나 다른 임상검사와 상관관계가 발견되지 않았다.

결론: 본 실험에서 사용된 paper point를 이용한 근관 삼출액의 채취를 통하여 치근단 염증과정에서 발현되는 MMP-8, SP를 검출할 수 있었으며 특히 SP의 경우 환자의 증상과 보다 관련이 깊은 것으로 나타났다.

주요단어: 근관 삼출액; 통증; MMP-8; SP