



Journal of Korean Society of Dental Hygiene

Original Article Real-time PCR을 이용한 요양보호시설 치매 노인의 구강 병원성 미생물 분석

고효진 · 전은숙 · 김혜진¹

춘해보건대학교 치위생과 · ¹동의대학교 대학원 보건학과

Analysis of periodontal pathogens in care facilities for the elderly with dementia

Received: 29 November 2016

Revised: 1 February 2017

Accepted: 8 February 2017

Hyo-Jin Ko · Eun-Suk Jeon · Hye-Jin Kim¹

Departments of Dental Hygiene, Choonhae College Of Health Sciences

¹Departments of Biomedical Health Science, Graduate School, Dongeui University

Corresponding Author: Hye-Jin Kim, Department of Biomedical Health Science, Graduate School, Dong-eui University Gaya 3-dong, Busanjin-gu, Busan 47340, Korea, Tel: +82-51-890-4327, Fax: +82-51-270-0239, E-mail: khj1126@deu.ac.kr

ABSTRACT

Objectives: The purpose of this research is to examine oral pathogen distribution among elderly with dementia in a care facility to understand the importance of preventively managing oral diseases in terms of preventively managing senile diseases. **Methods:** From 11th August 2015 to 11th October 2015, gingival crevicular fluid was collected from 130 subjects consisting of demented/non-demented elderly people aged above 65 in care facilities located in the regions of Busan/Gyeongnam. Based on collected data, real-time PCR analysis on oral pathogen was conducted. **Results:** The demented elderly group consisting of female patients aged from 0 to 79 indicated higher ratios of *T. denticola* in comparison to the non-demented elderly group, and the demented elderly group consisting of female patients aged above 80 indicated a high ratio of *S. mutans*. It was confirmed that *P. gingivalis* and *T. forsythensis* categorized under the red complex are correlated, and that bacterial species categorized under the orange complex and bacterial species categorized under the red complex are correlated. **Conclusions:** Because elderly people with dementia are exposed to periodontal disease and dental caries, their oral environments are more vulnerable. In order to improve such environments, it is necessary to provide care facility personnel with an opportunity to receive education to become aware of the importance of oral health, and it is also necessary to compulsorily assign dental hygienists to care facilities so that they can serve as personnel specializing in oral health management.

Key Words: Care facility, Dementia, Elderly, Oral pathogenic microorganisms

색인: 구강 병원성 미생물, 노인, 요양보호시설, 치매

서론

세계보건기구(World Health Organization)는 65~74세를 전기 고령자(the elderly), 75세 이상을 후기 고령자(the aged)로 정의하였고 우리나라는 노인을 ‘65세 이상인 자’로 노인복지법에서 규정

하고 있다[1]. 2014년 우리나라는 전체 인구의 고령 인구 비율이 12.7%로 이미 고령화 사회에 진입하였고, 2030년에는 전체 인구의 고령 인구 비율이 24.3%, 2060년에는 전체 인구의 고령 인구 비율이 40.1%로 초고령 사회에 도달할 것으로 예상하고 있다[2]. 이처럼 우리나라의 고령화 진행속도는 선진국과 비교하여 매우 빠른 편이라고 할 수 있으며, 출산율 저하, 여성의 사회활동 확대, 핵가족화 등으로 인해 노인의 지지기반은 더욱 취약해지고 있다. 또한, 노인 인구가 늘어나는 것은 노인성 질환자 증가 현상을 가져올 수 있으며 이로 인한 사회적인 문제가 발생할 수 있으므로 이에 대한 적극적인 논의가 이루어질 필요성이 있다.

노인이 되면 모든 장기의 퇴행성 변화로 인해 신체기능이 저하되고, 일상생활 활동에 제한이 따르며, 만성퇴행성 질환의 이환율이 높아지게 된다. 특히 나이가 증가함에 따라 뇌의 기질적 병변에 의해 기억력 장애를 비롯한 언어장애, 행동장애, 정서장애 및 기타 지적능력의 소실을 보이는 인지기능의 장애를 나타내는 치매에 걸릴 확률이 높은 것으로 알려져 있다[3]. 우리나라의 만 65세 이상 노인 치매 유병률은 2013년도에는 약 58만 명(9.39%)으로 추정되었으며, 2030년에는 약 127만 명(10.03%), 2050년에는 약 271만 명(15.1%)으로 20년마다 약 2배씩 증가할 것으로 예측하고 있다[4].

치매 노인의 일상생활 동작 수행능력 수준에 관한 연구에 따르면 목욕하기, 옷 입기 다음으로 양치질하기가 세 번째로 수행하기 어려운 동작으로 나타났다[5]. 따라서 요양시설에 입소한 다수의 노인은 인지 및 활동 장애로 양치질이 제대로 되지 않거나 구강 통증과 불편감 등을 표현하지 못하며, 구강 간호 제공 시 저항 행동을 보여 치과적인 문제점이 더욱 많이 발생하고 있다[6]. 치매 환자의 구강 내 질환이 방치되면 건강한 사람에 비해 노인들은 균혈증, 영양결핍, 기종, 뇌종양, 폐렴 등 전신질환이 더 자주 발생함이 보고되었으며[7], 세계보건기구에서는 미래에 해결해야 할 주요과제 중 하나로 구강질환 예방을 들고 있다[8].

사람의 구강에는 약 500가지가 넘는 세균이 존재하는 것으로 알려졌으며, 이러한 세균들은 숙주인 사람의 구강에서 세균막을 형성하게 되는데 이는 치아우식증, 치주염, 그리고 구취를 유발하는 원인이 된다[9]. 노인이 되면 타액의 자정작용이 감소하고 구강위생 능력이 저하되어 치면세균막의 축적이 빠르게 일어나고, 타액 성분 중 칼슘과 인의 농도가 증가하여 치석이 많이 형성되어 치주질환 유병률을 증가시킨다[10].

치주질환 환자의 치은연하 치태에 존재하는 다양한 종류의 세균 중 그람음성 혐기성 세균의 비율이 증가할 때 치주질환의 발생 빈도가 증가한다고 알려졌다[11]. 이와 같이 구강 내 세균은 세균성 심내막염[12], 폐렴[13], 저체중 신생아[14], 심혈관 질환[15] 등의 전신질환을 일으키는 요인이 된다는 점이 보고되었다. 결과적으로 구강 내의 질병뿐만 아니라 앞에 열거한 전신질환을 효과적으로 진단하고, 미리 예방할 기회를 제공하기 위해 구강 내 미생물의 구성을 확인하고 이를 정량화하는 것이 우선적으로 필요하다.

우리나라에서 구강 내 미생물에 관한 연구는 주로 만성 치주염 환자[16], 초·중·고등학교 학생[17], 다운증후군 환자[18]를 대상으로 이루어졌고, 노인을 대상으로 진행된 연구에는 치아우식증과 치주질환에 관한 연구[19], 요양기관과 재가 노인의 구강보건에 관한 연구[20]가 있지만 치매 환자를 대상으로 치주질환 원인균을 분석한 연구는 거의 없는 실정이다.

따라서 본 연구에서는 요양보호시설을 이용하고 있는 만 65세 이상 노인 중 치매가 있는 노인과 치매가 없는 노인을 대상으로 구강 내 미생물의 발현을 확인하고 정량적인 분석을 통하여 생물학적 근거를 제시하고, 치매 노인을 대상으로 하는 체계적인 구강질환 예방관리의 필요성을 확인하여 구강건강 관리자 역할의 중요성 인식 및 효과성 입증을 위한 추후 연구에 필요한 기초자료를 제공하고 자 한다.

연구방법

1. 연구대상

연구목적에 필요한 적절한 표본 수를 산출하기 위하여 G-power3.1.3 프로그램에서 신뢰 수준 95%, 효과 크기 0.6으로 표본 크기가 치매군 61명, 비치매군 61명으로 총 122명이면 가능한 조건임을 확인하였다. 따라서 2015년 8월 11일부터 2015년 10월 11일까지 경남지역 요양원 1곳과 부산지역 요양병원 3곳의 치매진단을 받은 치매 노인과 노인복지시설 4곳을 이용하고 있는 치매가 없는 만 65세 이상 노인 153명에게 조사를 진행하였다. 이 중에서 연구조건에 부합하지 않는 23명을 제외하고 치매가 있는 노인 60명과 치매가 없는 노인 70명의 총 130명을 최종 분석대상으로 하였다.

2. 연구방법

연구 대상자를 윤리적인 보호를 위해서 동의대학교 생명윤리위원회(IRB 승인번호: DIRB-201507-HR-R-019)의 승인을 받아서 진행하였다. 자료조사 전 연구의 목적과 방법, 연구 참여에 대한 익명성 보장, 자발적인 연구 참여, 동의와 거부, 발생 가능한 이익과 불이익을 포함하는 내용을 구두와 서면으로 설명하고 동의를 구하였으며, 치매 노인의 경우 인지장애로 인한 의사결정력의 결여를 고려하여 법적대리인의 동의를 받도록 하였다. 오전 10시~12시 사이의 동일한 시간에 방문하여 환자의 성별과 연령, 전신질환에 관한 설문조사를 한 다음 치은열구액을 채취하여 DNA를 추출하고 다중연쇄 효소중합 반응 기법(Multiplex real-time polymerase chain reaction: Real-time PCR)을 이용하여 자료를 수집하였다.

1) 치은열구액 채취

치주질환 원인균의 DNA는 구강 내 치아 중 전치부 1개, 구치부 1개 협·설측 또는 순·설측 치아 부위에서 멸균된 근관치료용 paper point (#90번 2개와 #30번 2개, Sure-endo®, Sure Dent Co., Korea) 4개를 이용하여 치은열구에 10초간 삽입하여 표본을 획득하였다. Paper point는 제거한 즉시 phosphate buffered saline (PBS, Gibco BRL, Life Technologies, Grand Island, NY, USA) 1 µl가 담긴 1.5 micro tube에 넣어서 냉장 보관하여 유전자검사기관에 보낸 다음 사용할 때까지 -20°C에서 보관되었다.

2) 구강 병원성 미생물 DNA의 추출

Exgene Clinic SV mini Kit (GeneAll, Korea)를 이용하여 제조회사의 지시에 따라 구강미생물의 DNA를 추출하였다. 시료 200 μ l를 1.5 mL 튜브에 넣은 후, 20 μ l의 proteinase K를 첨가하였다. 200 μ l buffer BL를 시료에 추가한 후 15초 동안 진탕기로 혼합 시킨 후 10분 동안 56°C에서 정치하였다. 200 μ l 100% 에탄올을 첨가하고 15초 동안 진탕기로 혼합 시킨 후, 컬럼에 옮겨 투과하였다. 컬럼에 500 μ l의 buffer BW를 추가한 후 1분 동안 6000 $\times$ g에서 원심 분리하였다. 새 튜브에 컬럼을 옮기고 500 μ l의 buffer TW를 추가한 후 3분 동안 20,000 g로 원심분리한 후 튜브는 폐기 하였다. 새 튜브에 200 μ l의 buffer AE를 첨가하고 5분 동안 상온에서 정치한 후 1분 동안 6,000 $\times$ g로 원심 분리하여 PCR에 사용하였다.

3) 다중연쇄 효소증합 반응 기법에 의한 정량 분석

구강미생물의 정량분석을 위하여 Cytoperio analysis system (Microis, Korea)를 이용하여 구강 내 존재하는 전체 미생물의 검출을 위해서는 16s rDNA 단편을 증폭하였고, 각각의 미생물 검출을 위해서는 functional gene (rgpB, waaA, gtf)으로부터 specific primer를 제작하여 약 200 bp 내외의 DNA 단편을 각각 증폭하였다. Real-time PCR에 사용된 probe들은 서로 간섭을 고려하여 파장이 겹치지 않는 3종을 선택하였고, 각 반응에서 분석 대상 균종들 중 3종씩 묶어서 네 종류의 pannel으로 구성하였다<Table 1>.

Real-time PCR 반응 용액은 추출한 total DNA 2 μ l와 각각의 primer set 10 pmol, probe와 완충용액, 1unit Hot-start Taq DNA polymerase(GeneAll, Korea)을 혼합하여 총 20 μ l가 되도록 제조하였다. 96 well plate에 분주 후 ABI 7500 Fast Real-Time PCR System (Applied Biosystems, Life Technologies, USA)을 이용하여 정량분석을 시행하였다. 이 때 사용한 Real-time PCR의 조건은 최초 변성을 위해 95°C에서 15분간, 이후 45번의 cycle은 95°C에서 15초, 55°C에서 15초, 72°C에서 20초간 시행하였다. Cycle threshold (Ct)는 알려진 숫자의 DNA농도의 대수기에서 시작하며, 세균

Table 1. Used strains in this study

	Target strain
A pannel	<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i> KCTC3698
	<i>Porphyromonas gingivalis</i> KCTC5352
	<i>Tannerella forsythensis</i> KCTC5666
B pannel	<i>Treponema denticola</i> KCTC15104
	<i>Prevotella intermedia</i> KCTC3692
	<i>Fusobacterium nucleatum</i> KCTC2640
C pannel	<i>Parvimonas micra</i> ATCC33270
	<i>Campylobacter rectus</i> KCTC5636
	<i>Eikenella corrodens</i> KCTC15198
D pannel	<i>Streptococcus mutans</i> KCTC3065
	<i>Streptococcus sobrinus</i> KCTC3308
	Total bacteria 16s rDNA control

수에 대한 표준곡선(standard curve)에 의해서 시료 당 세균수가 측정되었다. 본 논문에서는 단위가 큰 수치를 간략하게 표현하여 차이를 비교하기 용이하도록 자연로그 함수로 전환한 값으로 제시하였다.

4) 표준곡선

표준곡선(Standard curve)은 한국생명공학연구원 미생물자원센터(KCTC, Korea)와 American Type Culture Collection (ATCC, USA)에서 분양받은 표준균주의 real-time PCR 분석 전에 이미 알고 있는 DNA 정보의 값을 이용하여 Real-time PCR 분석 후에 그 결과 값이 분석 전 입력 값에 대비하여 표준곡선이 그려진다(Fig. 1, Fig. 2). Real-time PCR 분석에서 정량을 위한 표준곡선은 순수 배양한 미생물에서 Clinic SV mini Kit (GeneAll, Korea)를 사용하여 genomic DNA를 추출한 다음, 정량 분석에서 사용한 똑같은 조건의 real-time PCR에 사용하였다. 이때 genomic DNA를 105에서 100copies까지 10배수로 희석하여 표준곡선을 만드는데 template DNA로 사용하였다.

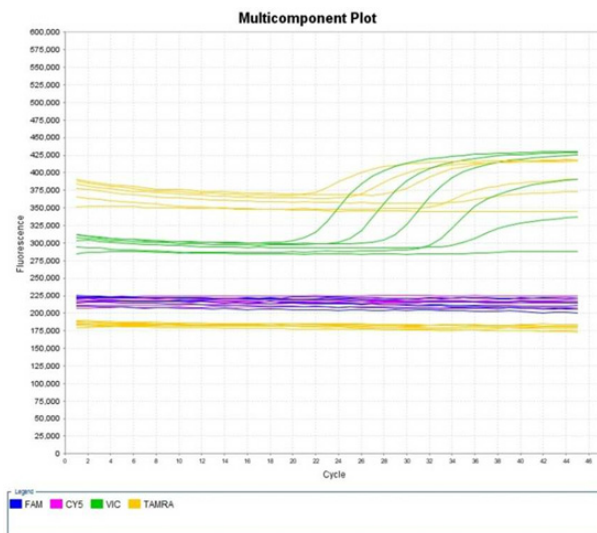


Fig. 1. Amplification of profiles for *T. denticola*-specific PCR products

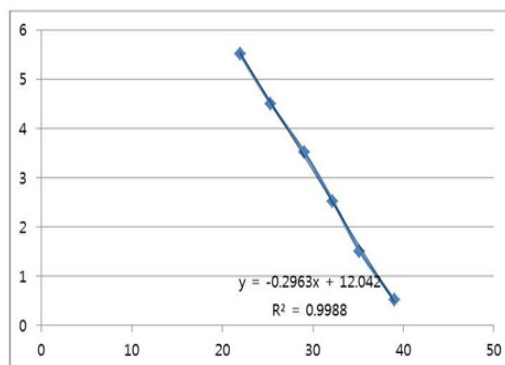


Fig. 2. Standard curve was generated from the amplification plot of *T. denticola*. A suspension of *T. denticola* cells was serially diluted

3. 통계분석

본 연구에서 수집된 자료는 SPSS Windows ver. 21.0 프로그램(SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 이용하여 분석하였으며, 통계적 유의수준은 $p < 0.05$ 로 하였다. 치매가 있는 노인과 치매가 없는 노인의 일반적 특성에 대한 빈도분석, 일반적인 특성에 따른 구강 병원성 미생물 분포의 차이를 검정하기 위하여 t-검정(t-test)을 실시하였다. 그리고 각 구강 병원성 미생물 간의 상관관계를 파악하기 위하여 피어슨의 상관관계(Pearson's correlation) 분석을 실시하였다.

연구결과

1. 일반적 특성

연구대상자의 일반적 특성을 살펴보면 성별의 경우 치매군은 여자가 63.3%, 남자가 36.7%이었고 치매가 없는 군은 여자가 67.1%, 남자가 32.9%이었다. 치매군은 80세 이상이 61.7%, 70~79세가 30.0%, 65~69세가 8.3%이었고 치매가 없는 군은 70~79세가 57.1%, 65~69세가 22.9%, 80세 이상이 20.0%이었다. 치매군의 전신질환은 단일질환인 경우가 85.0%, 복합질환인 경우가 15.0%이었고 대조군의 전신질환은 단일질환인 경우가 71.4%, 복합질환인 경우가 28.4%이었다. 치매군은 고혈압이 34.7%, 뇌혈관질환이 28.6%, 당뇨병이 18.3%, 심혈관질환이 10.2%였으며 치매가 없는 군은 고혈압이 41.1%, 당뇨병이 26.0%, 뇌혈관질환이 15.1%, 심혈관질환이 6.8%였다<Table 2>.

Table 2. General characteristics of subjects

Unit : N (%)

Characteristic	Division	Dementia	Non dementia
Gender	Male	22 (36.7)	23 (32.9)
	Female	38 (63.3)	47 (67.1)
Age (year)	65~69	5 (8.3)	16 (22.9)
	70~79	18 (30.0)	40 (57.1)
	≥80	37 (61.7)	14 (20.0)
Systemic disease classification	Single disease	51 (85.0)	50 (71.4)
	Complex diseases	9 (15.0)	20 (28.6)
Systemic disease ¹⁾	Hypertension	17 (34.7)	30 (41.1)
	Diabetes	9 (18.3)	19 (26.0)
	Cardiovascular disease	5 (10.2)	5 (6.8)
	Brainvascular diseases	14 (28.6)	11 (15.1)
	Etc	4 (8.2)	8 (11.0)
Total		60 (100.0)	70 (100.0)

¹⁾Multiple responses

2. 성별에 따른 구강 병원성 미생물

성별에 따른 구강 병원성 미생물의 분포를 살펴보면 여자의 경우 치매군에서 Red Complex의 *T. denticola*가 18.68 ± 1.84 로 치매가 없는 군의 17.04 ± 2.50 보다 높았으며 ($t = -2.501, p < 0.05$), *S. mutans*는 치매군에서 15.06 ± 1.95 로 치매가 없는 군의 13.06 ± 3.19 보다 높았다($t = -2.537, p < 0.05$) <Table 3>.

Table 3. Oral pathogenic microorganisms according to gender characteristics Unit: Mean $\pm$ SD

Division	Bacteria	Gender	Dementia	Non dementia	t	p*
Aa & Red complex	Aa	Male	11.57 $\pm$ 0.00	17.39 $\pm$ 5.25	0.960	0.439
		Female	15.94 $\pm$ 5.12	17.59 $\pm$ 4.40	0.458	0.666
	Pg	Male	17.55 $\pm$ 1.52	18.11 $\pm$ 1.05	0.936	0.361
		Female	17.41 $\pm$ 1.79	17.71 $\pm$ 1.27	0.609	0.546
	Tf	Male	16.74 $\pm$ 2.21	16.45 $\pm$ 3.17	-0.280	0.782
		Female	16.50 $\pm$ 1.99	16.89 $\pm$ 2.19	0.708	0.482
	Td	Male	17.78 $\pm$ 2.75	17.81 $\pm$ 2.18	0.024	0.981
		Female	18.68 $\pm$ 1.84	17.04 $\pm$ 2.50	-2.501	0.016
	Pi	Male	16.74 $\pm$ 2.69	16.57 $\pm$ 2.90	-0.169	0.867
		Female	16.27 $\pm$ 2.43	16.35 $\pm$ 3.35	0.110	0.913
Orange complex	Fn	Male	19.19 $\pm$ 2.23	19.00 $\pm$ 1.68	-0.313	0.756
		Female	19.96 $\pm$ 1.34	19.54 $\pm$ 1.88	-1.176	0.243
	Pm	Male	17.46 $\pm$ 2.05	16.22 $\pm$ 2.30	-1.705	0.097
		Female	17.74 $\pm$ 1.68	17.46 $\pm$ 2.05	-0.646	0.520
	Cr	Male	18.66 $\pm$ 2.76	18.15 $\pm$ 2.00	-0.482	0.635
		Female	17.71 $\pm$ 2.69	17.70 $\pm$ 2.09	-0.018	0.986
Green complex	Ec	Male	13.09 $\pm$ 2.66	12.30 $\pm$ 2.97	-0.871	0.390
		Female	14.39 $\pm$ 2.89	13.42 $\pm$ 3.41	-1.157	0.252
Dental caries	Sm	Male	14.12 $\pm$ 2.52	14.91 $\pm$ 3.04	0.743	0.464
		Female	15.06 $\pm$ 1.95	13.06 $\pm$ 3.19	-2.537	0.015
	Ss	Male	13.99 $\pm$ 2.19	13.16 $\pm$ 2.92	-0.590	0.566
		Female	15.19 $\pm$ 3.55	14.38 $\pm$ 2.84	-0.531	0.602
Total microorganisms		Male	21.80 $\pm$ 0.69	21.61 $\pm$ 0.92	-0.797	0.430
		Female	22.18 $\pm$ 0.91	21.86 $\pm$ 1.00	-1.530	0.130

Aa: *A. actinomycetemcomitans*, Pg: *P. gingivalis*, Tf: *T. forsythensis*, Td: *T. denticola*, Pi: *P. intermedia*, Fn: *F. nucleatum*, Pm: *P. micra*, Cr: *C. rectus*, Ec: *E. corrodens*, Sm: *S. mutans*, Ss: *S. sobrinus*

*by independent t-test

3. 연령에 따른 구강 병원성 미생물

연령에 따른 구강 병원성 미생물의 분포를 살펴보면 70~79세에서 *T. denticola*는 치매군이 19.64 ± 0.88 로 치매가 없는 군의 17.83 ± 1.70 보다 높았으며($t = -2.687, p < 0.05$), 80세 이상에서 *S. mutans*는 치매군에서 14.97 ± 2.15 로 치매가 없는 군의 12.61 ± 2.84 보다 높았다($t = -2.438, p < 0.05$) <Table 4>.

Table 4. Oral pathogenic microorganisms according to age characteristics

Unit: Mean±SD

Division	Bacteria	Age (year)	Dementia	Non dementia	t	p*
Aa & Red complex	Aa	65~69	-	19.35±0.39	-	-
		70~79	13.75±5.11	16.12±5.63	0.570	0.593
		≥80	18.14±0.00	-	-	-
	Pg	65~69	18.84±0.713	17.70±1.43	-1.501	0.334
		70~79	17.47±1.03	17.75±0.97	0.744	0.463
		≥80	17.32±1.99	18.46±1.92	1.056	0.302
	Tf	65~69	18.98±1.82	15.22±2.53	-1.991	0.070
		70~79	17.06±1.80	17.08±2.51	0.016	0.987
		≥80	16.17±2.03	17.64±1.92	1.897	0.067
	Td	65~69	16.49±6.01	15.89±2.65	-0.248	0.808
		70~79	19.64±0.88	17.83±1.70	-2.687	0.011
		≥80	18.15±1.85	17.00±3.66	-1.051	0.304
Orange complex	Pi	65~69	18.20±0.67	16.34±2.07	-1.503	0.159
		70~79	16.23±2.24	16.46±3.42	0.219	0.828
		≥80	16.34±2.72	16.40±3.80	0.055	0.957
	Fn	65~69	19.60±0.98	19.07±2.21	-0.512	0.614
		70~79	19.84±1.12	19.38±1.72	-1.055	0.296
		≥80	19.61±2.06	19.65±1.70	0.069	0.945
	Pm	65~69	16.74±2.09	17.10±1.85	0.340	0.738
		70~79	18.04±1.64	17.02±2.34	-1.642	0.107
		≥80	17.54±1.84	17.16±2.29	-0.583	0.563
	Cr	65~69	16.93±2.91	17.32±2.18	0.254	0.804
		70~79	18.64±1.99	17.89±2.05	-0.917	0.365
		≥80	17.78±2.91	18.23±2.03	0.405	0.688
Green complex	Ec	65~69	14.32±1.85	12.81±3.82	-0.836	0.415
		70~79	14.25±2.96	12.86±3.22	-1.418	0.163
		≥80	13.45±2.99	13.95±2.72	0.441	0.662
Dental caries	Sm	65~69	14.00±3.15	14.77±1.92	0.517	0.618
		70~79	14.45±2.06	13.94±3.67	-0.423	0.675
		≥80	14.97±2.15	12.61±2.84	-2.438	0.021
	Ss	65~69	14.36±2.16	11.16±2.83	-1.575	0.190
		70~79	15.52±3.17	15.63±2.23	0.057	0.957
		≥80	14.50±3.28	13.44±2.61	-0.649	0.525
Total microorganisms		65~69	22.14±0.30	21.60±1.07	-1.085	0.292
		70~79	22.13±0.75	21.81±0.93	-1.279	0.206
		≥80	21.99±0.95	21.88±1.05	-0.351	0.727

Aa: *A. actinomycetemcomitans*, Pg: *P. gingivalis*, Tf: *T. forsythensis*, Td: *T. denticola*, Pi: *P. intermedia*, Fn: *F. nucleatum*, Pm: *P. micra*, Cr: *C. rectus*, Ec: *E. corrodens*, Sm: *S. mutans*, Ss: *S. sobrinus*

*by independent t-test

4. 전신질환 특성에 따른 구강 병원성 미생물

전신질환 특성에 따른 구강 병원성 미생물 분포를 살펴보면 Orange Complex의 *F. nucleatum*은 복합질환을 갖고 있는 경우 치매군이 20.56±0.71로 치매가 없는 군 19.33±1.72보다 높았으나 통계적으로 유의한 차이를 확인할 수 없었다<Table 5>.

Table 5. Oral pathogenic microorganisms according to systemic disease characteristics

Unit: Mean±SD

Division	Bacteria	Systemic disease	Dementia	Non dementia	t	p*
Aa & Red complex	Aa	Single	13.27±4.28	18.50±4.03	1.743	0.132
		complex	19.60±0.00	15.00±5.55	-0.676	0.622
	Pg	Single	17.29±1.59	18.07±1.30	1.760	0.085
		complex	18.22±2.01	17.36±0.83	-1.161	0.267
	Tf	Single	16.52±1.99	16.48±2.86	-0.054	0.957
		complex	16.89±2.42	17.25±1.67	0.402	0.692
Orange complex	Td	Single	18.35±2.35	17.12±2.41	-1.829	0.073
		complex	18.71±0.72	17.42±2.53	-1.106	0.284
	Pi	Single	16.42±2.53	16.75±2.75	0.531	0.597
		complex	16.53±2.58	15.49±4.17	-0.513	0.615
	Fn	Single	19.52±1.82	19.37±1.88	-0.402	0.689
		complex	20.56±0.71	19.33±1.72	-2.054	0.050
Green complex	Pm	Single	17.64±1.89	17.13±2.15	-1.161	0.249
		complex	17.69±1.34	16.95±2.31	-0.895	0.379
	Cr	Single	17.62±2.65	17.86±1.80	0.419	0.677
		complex	18.70±2.80	17.73±2.66	-0.828	0.418
	Ec	Single	13.72±2.93	12.89±3.58	-1.148	0.254
		complex	14.71±1.45	13.39±2.39	-1.038	0.314
Dental caries	Sm	Single	14.51±2.20	14.10±3.32	-0.548	0.586
		complex	15.71±2.07	13.36±3.13	-1.674	0.111
	Ss	Single	14.47±3.00	13.82±3.17	-0.502	0.620
		complex	15.51±3.21	14.28±2.24	-0.603	0.573
Total microorganisms		Single	21.98±0.87	21.81±0.96	-0.934	0.352
		complex	22.39±0.63	21.70±1.03	-1.864	0.073

Aa: *A. actinomycetemcomitans*, Pg: *P. gingivalis*, Tf: *T. forsythensis*, Td: *T. denticola*, Pi: *P. intermedia*, Fn: *F. nucleatum*, Pm: *P. micra*, Cr: *C. rectus*, Ec: *E. corrodens*, Sm: *S. mutans*, Ss: *S. sobrinus*

*by independent t-test

5. 구강 병원성 미생물의 상관관계

Red Complex의 *P. gingivalis*와 *T. forsythensis* ($r=0.701$, $p<0.01$)는 정(+)적인 상관관계가 있었다. Orange Complex의 *P. intermedia*는 Red Complex의 *P. gingivalis* ($r=0.357$, $p<0.05$), *T. forsythensis* ($r=0.396$, $p<0.01$), *T. denticola* ($r=0.290$, $p<0.05$)와 정(+)적인 상관관계가 있었고, *F. nucleatum*는 *P. gingivalis* ($r=0.472$, $p<0.01$), *T. forsythensis* ($r=0.316$, $p<0.01$), *T. denticola* ($r=0.399$, $p<0.01$), *P. intermedia* ($r=0.373$, $p<0.01$)와 정(+)적인 상관관계가 있었다. *P. micra*는 *T. forsythensis* ($r=0.271$, $p<0.05$), *T. denticola* ($r=0.360$, $p<0.01$), *F. nucleatum* ($r=0.457$, $p<0.01$)와 정(+)적인 상관관계가 있었고, *C. rectus*는 *T. forsythensis* ($r=0.442$, $p<0.01$), *F. nucleatum* ($r=0.267$, $p<0.05$)와 정(+)적인 상관관계가 있었다. Green Complex의 *E. corrodens*는 *F. nucleatum* ($r=0.213$, $p<0.05$)와 정(+)적인 상관관계가 있었다. *S. mutans*는 *S. sobrinus* ($r=0.682$, $p<0.01$)와 정(+)적인 상관관계가 있으며, 전체 미생물의 수치는 *A. actinomycetemcomitans*를 제외한 모든 구강

Table 6. Correlation of oral pathogenic microorganisms

	Aa	Pg	Tf	Td	Pi	Fn	Pm	Cr	Ec	Sm	Ss	T
Aa	1											
Pg	0.400	1										
Tf	0.240	0.701**	1									
Td	-0.140	0.152	0.113	1								
Pi	0.367	0.357*	0.396**	0.290*	1							
Fn	-0.493	0.472**	0.316**	0.399**	0.373**	1						
Pm	-0.517	0.181	0.271*	0.360**	0.049	0.457**	1					
Cr	-0.088	0.288	0.442**	0.133	0.256	0.267*	0.196	1				
Ec	0.053	-0.092	-0.107	0.073	0.095	0.213*	-0.006	0.057	1			
Sm	-0.123	0.131	-0.161	0.021	-0.329*	0.027	-0.157	0.078	0.084	1		
Ss	.	-0.116	0.164	0.057	-0.296	0.073	-0.065	0.260	-0.131	0.682**	1	
T	-0.081	0.252*	0.239*	0.427**	0.297**	0.703**	0.288**	0.315**	0.420**	0.167	0.126	1

Aa: *A. actinomycetemcomitans*, Pg: *P. gingivalis*, Tf: *T. forsythensis*, Td: *T. denticola*, Pi: *P. intermedia*, Fn: *F. nucleatum*, Pm: *P. micra*, Cr: *C. rectus*, Ec: *E. corrodens*, Sm: *S. mutans*, Ss: *S. sobrinus*, T: total microorganisms

* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ by Pearson's correlation analysis

병원성 미생물과 정(+)적인 상관관계가 있으며 *F. nucleatum* ($r=0.703$, $p<0.01$)과 상관관계가 있었다($p<0.05$)<Table 6>.

총괄 및 고안

우리나라는 고령화 사회로 진입하면서 가족들의 삶에까지 경제적, 정신적 심각한 파급효과를 미치는 치매에 대한 관심이 확대되고 있다. 최근에는 자연치 상실 등의 구강건강 상태와 치매의 관련성을 밝히고자 하는 연구가 발표되고 있으며[21], 노년기 치아 상실의 주요 원인이 되는 만성적인 치주염은 치아의 지지조직에서 염증을 유발하는 구강 미생물 감염에 의한 것이라고 알려져 왔다[22]. 따라서 치매 노인의 구강건강 상태에 대한 생물학적 근거로써 구강 병원성 미생물의 분포를 파악하여 이와 관련된 특성을 규명하고 노인성 질환의 예방관리에 있어서 구강질환 예방관리의 중요성을 인식하고 체계화된 구강관리의 프로그램 운영의 필요성을 제시하는데 필요한 기초적인 자료를 제공하고자 총 130명의 구강 병원성 미생물 분포를 조사하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

치매군은 여자가 63.3%, 남자가 36.7%였으며 80세 이상이 61.7%, 70~79세가 30.0%, 65~69세가 8.3%로 조사되어 80세 이상의 여자 치매 노인이 많았다. 이런 결과는 치매 노인의 치아 상실, 저작기능과 인지장애를 조사한 Fanny 등[21]의 연구에서 치매군의 평균 연령이 82.5세이며 여성이 3배 정도 많았고, Jorm 등[23]의 연구에서 일반적으로 치매의 유병률은 만 65세 미만에서는 1% 미만이지만 그 후 나이가 5세 증가할 때마다 유병률이 두 배가 되었다는 연구 결과와 유사하였다. 따라서 치매는 연령이 높은 여자에서 많이 발병된다고 할 수 있다.

전신질환의 경우 치매군은 고혈압이 34.7%, 뇌혈관 질환이 28.6%, 당뇨병이 18.3%, 심혈관 질환이 10.2% 순으로 나타났고 치매가 없는 군은 고혈압이 41.1%, 당뇨병이 26.0%, 뇌혈관 질환이 15.1%, 심혈관 질환이 6.8% 순으로 나타났다. 따라서 만 65세 이상 노인 인구에서 가장 흔한 전신질환

환은 고혈압이며 치매 환자에서는 뇌혈관 질환과 심혈관 질환의 비율이 상대적으로 높음을 확인할 수 있었다. 최근에는 만성적 국소감염증인 치주병이 심혈관계 질환과 당뇨와 같은 전신적 질환이나 그 이상의 잠재적 위험 요인이 될 수 있다는 연구 결과[15]가 보고되면서 치주질환에 대한 관심이 증대되고 있다. 따라서 치매에 영향을 미치는 요소로 치주질환을 확인하고 치주염과 관련된 구강 병원성 미생물을 검토하여 관련성을 규명하는 것은 매우 의미 있는 과정이라고 생각된다.

본 연구의 결과에서 한 가지 전신질환을 가진 경우보다 복합적인 전신질환을 가진 치매군에서 Orange complex의 *F. nucleatum*이 치매가 없는 대조군보다 높게 나타났지만 유의성은 확인할 수 없었다. Stein 등[24]이 알츠하이머에 대한 잠재적 위험 인자로 치주질환에서 만성 염증으로 인식되었다는 결과와 같은 치매 노인의 전신질환과 치주질환 원인균에 관한 추가적인 연구의 필요성을 확인하였다. 본 연구에서는 특정 전신질환과 치주질환 원인균과의 관련성은 파악하지 못하였고, 질병의 심각도 등은 고려하지 못하였으므로 추후 연구에서는 질환 종류별 집단을 확보하여 관련성을 규명이 이루어져야 할 것이다.

치매 노인과 치매가 없는 노인의 구강 병원성 미생물 분포에 영향을 미치는 요소를 살펴본 결과는 여자, 70~79세 치매군은 *T. denticola*가 치매가 없는 군보다 높았다($p<0.05$). Haffajee 등[25]은 *T. denticola*는 *P. gingivalis*, *T. forsythia*와 함께 만성 치주염을 가진 환자의 치은연하에서 출현 빈도가 증가한다고 하였다. 따라서 치주질환 원인균 중에서 Aa & Red complex에 해당하는 *T. denticola*는 일상생활을 혼자서 수행하기 어려운 치매 노인의 경우 만성적인 치주염에 더욱 많이 노출되어 있다는 결과로 해석할 수 있으며 요양보호시설 종사자의 도움 없이 자가 구강관리가 힘든 치매 노인의 경우 요양보호시설 인력의 도움이 절실히 요구되는 상황이라고 할 수 있다. 또한, 특히 많이 분포된 균주의 발현 과정에 영향을 미치는 원인 규명, 뇌의 인지기능과 관련성 규명 및 치주질환 예방관리의 효과성을 검증하는 연구 등 만성적인 치주조직 염증의 감소를 위한 추가적인 후속연구가 필요하다고 생각된다.

80세 이상에서 *S. mutans*는 치매군에서 치매가 없는 군보다 높았다($p<0.05$). Jeon 등[26]의 연구에서 노인전문 요양병원의 노인을 대상으로 하는 치매 유무에 따른 구강건강상태를 비교한 결과 치매 노인의 영구치우식유병률은 37.8%이었고, 비치매 노인은 28.4%이었다. 그리고 85세 이상 치매 노인의 영구치우식유병률은 40.0%로 비치매 노인의 44.4%보다 낮지만, 우식영구치면지수는 치매 노인이 2.92면으로 비치매 노인의 1.31면보다 높은 것을 확인하였다. 이것은 영구치우식유병률은 낮지만 치아우식증의 심각성은 더 크다고 해석할 수 있으므로 자가 구강관리가 힘든 치매 노인의 경우 더욱 취약한 구강환경에 노출된 것으로 보인다. 여러 명의 노인을 동시에 직접 관리하는 노인요양 시설 종사자의 경우 다른 전신질환 관리에 비교하여 상대적으로 구강관리의 중요성에 대한 인식 부족과 우선적인 업무로 인해서 다소 소홀하게 관리될 수 있을 것으로 생각된다. 따라서 취약한 환경에 노출된 치매 노인의 구강질환 예방관리를 위해서 노인 요양보호시설 종사자 및 대상자에 대한 구강보건교육이 필요하며, 치매 노인의 구강을 전문적으로 관리할 수 있는 치과위생사의 배치 등 체계적인 구강건강관리를 위한 방안이 마련되어야 한다.

복합적인 전신질환이 있는 경우 치매군은 *F. nucleatum*이 치매가 없는 군보다 높았으나 유의성을

확인할 수 없었다. *F. nucleatum*은 치주질환의 주요 원인균이며 형태는 방추형인 혐기성 세균으로 구강에서 정상으로 발견되기도 하며, 잇몸 사이에서 자주 발견되고 다른 세균과 공동 응집에 중요한 역할을 한다[27]. Orange complex에 해당하는 *F. nucleatum*은 복합 전신질환을 가진 치매군에서 높게 나타난 것은 치매로 인한 구강관리의 어려움과 복합적인 질환을 가진 경우 많은 약물을 복용하고 있을 가능성이 있으므로 구강건조증, 구취 등의 구강 내 미생물들이 서식하기 좋은 환경을 갖고 있다고 볼 수 있다. 따라서 구강건조증과 구취 등의 조건을 조사하여 관련성을 규명하는 후속연구가 이루어져야 할 것이다.

Red Complex의 *P. gingivalis*와 *T. forsythensis*는 서로 상관관계가 있었고, Orange Complex의 *P. intermedia*, *F. nucleatum*은 Red Complex의 *P. gingivalis*, *T. forsythensis*, *T. denticola*와 상관관계가 있었다($p < 0.05$). 또한, *P. micra*와 *C. rectus*는 *T. forsythensis*와 *T. denticola*, *F. nucleatum*과 *E. corrodens*는 *F. nucleatum*과 상관관계가 있음을 확인하였다($p < 0.05$). 치매유무에 따른 치주질환 원인균의 양에는 유의한 차이가 없었지만 치주질환 원인균이 서로 상관성을 가지고 공존하고 있음을 발견하였다. 추후 노인의 정확한 치주건강 상태를 평가함에 있어 Real-time PCR을 이용한 치주질환 원인균의 주기적인 정성 및 정량적 검사가 도움이 되리라 사료된다.

본 연구는 치매 외 치주질환에 영향을 미칠 수 있는 전신질환, 흡연여부, 치주건강 상태, 구강관리 습관, 저작기능 등의 다양한 변수를 고려하지 못하였기에 치매의 영향이라는 결과로 단정 짓기에는 제한점이 따른다. 이러한 한계점에도 불구하고 연구에 적정 표본수 산출을 위한 G-power 3.1.3 프로그램을 활용하여 표본 수를 결정하였다. 이것은 인지기능 장애와 거동 불편 등의 이유와 법적 대리인의 동의를 구해야 하는 연구 절차로 인해 대상자 확보에 어려움이 많은 연구조건임에도 불구하고 적절한 표본 수로 조사가 이루어졌기에 그 의미가 크다. 또한, 치매 여부에 따른 구강 병원성 미생물의 정량적 분석 결과로 시설을 이용하고 있는 치매 노인에 대한 구강관리 중요성을 다시 한 번 인식할 수 있었으며, 요양보호시설을 이용하고 있는 치매 노인의 구강건강 관리를 위한 전문적인 인력 배치의 필요성을 확인하였다. 향후 군주의 발현 과정에 영향을 미치는 원인 및 뇌의 인지기능과 관련성을 규명하는 연구와 치매 노인을 대상으로 치주질환 예방 및 조절을 위한 다양한 중재방법을 적용하여 효과성을 입증하는 후속연구가 지속적으로 수행되어야 할 것이다. 그리고 치매 노인의 구강관리의 료체계를 구축하여 구강건강증진을 유도할 수 있도록 노력해야 할 것이다.

결론

본 연구는 요양보호시설을 이용하고 있는 치매 노인의 구강 내 구강 병원성 미생물 분포를 조사하여 노인성 질환의 예방관리에 있어서 구강질환 예방관리의 중요성을 파악하고자 시행하였다. IRB 승인 후 2015년 8월 11일부터 2015년 10월 11일까지 부산·경남지역 일부 요양보호시설 만 65세 이상 치매 노인과 노인복지시설을 이용 중인 치매가 없는 노인에게 구강검진 및 치은열구액을 채취하여 유전자분석전문기관에서 실시간 다중연쇄 효소증합 반응 기법으로 최종 130명에게 구강 병원성 미생물의 정량적인 분석을 실시하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 70~79세, 여성 치매군은 치매가 없는 군보다 만성치주염 원인균 *T. denticola*의 분포가 높았다.
2. 80세 이상, 여성 치매군은 치매가 없는 군보다 치아우식증 원인균 *S. mutans*의 분포가 높았다.
3. Red Complex의 *P. gingivalis*와 *T. forsythensis*는 서로 상관관계가 있었고, Orange Complex의 *P. intermedia*, *F. nucleatum*은 Red Complex의 *P. gingivalis*, *T. forsythensis*, *T. denticola*와 상관관계가 있었다. 또한, *P. micra*와 *C. rectus*는 *T. forsythensis*와 *T. denticola*, *F. nucleatum*과 *E. corrodens*는 *F. nucleatum*와 상관관계가 있음을 확인하였다.

본 연구의 분석 결과 치매 노인은 치주질환 및 치아우식증에 노출되어 구강환경이 더욱 취약하다고 할 수 있다. 이를 개선하기 위해서 요양보호시설 종사자에게 노인성 질환의 예방관리에 있어서 구강건강 관리의 중요성을 인식시킬 수 있는 교육기회를 제공하고, 요양보호시설에 구강건강 관리 전문 인력인 치과위생사의 의무적인 배치 등의 방안이 필요하다. 또한, 특정 균종이 발현되는 특성을 파악하여 이에 대한 예방관리의 효과성 입증할 수 있는 폭넓은 추가적인 연구가 필요하다.

References

- [1] Elderly Welfare Act[Enforcement Date 29. April, 2015] [Act No. 13102, 28. Jan, 2015], Partial Amendment Ministry of Health and Welfare, 28.
- [2] Statistics Korea. 2014 elderly statistics[internet]. Statistics Korea; 2014. Available from: https://kostat.go.kr/portal/korea/kor_nw/2/1/index.board?bmode=read&aSeq=330349
- [3] Mendez MF, Cummings JL. Dementia: a clinical approach. 3rd ed. Philadelphia: Butterworth-heinemann; 2003;654.
- [4] Oh YH. The health status of older koreans and policy considerations. 3rd ed. Seoul: Korea Institute for Health and Social Affairs; 2013: 29-39.
- [5] Jo YH. Family caregivers' needs for a professional help by the symptom level of senile dementia[Master's thesis]. Seoul: Univ. of Yeonsei, 2006.
- [6] Chalmers J, Johnson V, Tang JH, Titler MG. Evidence-based protocol: Oral hygiene care for functionally dependent and cognitively impaired older adults. J Gerontol Nurs 2004;30:5-12.
- [7] Muligan R, Navazesh M. Relationship between oral conditions and systemic disease in the elderly, J Dent Res 1992;71:31.
- [8] Petersen PE. Globl policy for improvement of health in the 21st century-implications to oral health research of World Health Assembly 2007, World Health Orgnization. Community Dent Oral Epidemiol 2009;37:1-8.
- [9] Kroes I, Lepp PW, Relman DA. Bacterial diversity within the human subgingival crevice. Proc Natl Acad Sci 1999;96:14547-52.
- [10] Jung JH, Kim KY, Jeong SH, Kim KS, Lee YM. The effect of oral health behaviors on the periodontal status of teenagers. J Korean Soc Dent Hyg 2014;14:163-71. <https://doi.org/10.13065/jksdh.2014.14.02.163>
- [11] Socransky SS, Haffajee AD. The bacterial etiology of destructive periodontal disease-current concepts. J Periodontol 1992;63:22-31.
- [12] Berbari EF, Cockerill FR 3rd, Steckelberg JM. Infective endocarditis due to unusual or fastidious microorganisms. Mayo Clin Proc 1997;72:532-42. [https://doi.org/10.1016/S0025-6196\(11\)63302-8](https://doi.org/10.1016/S0025-6196(11)63302-8)
- [13] Scannapieco FA. Role of oral bacteria in respiratory infection. J Periodontol 1999;70:793-802.
- [14] Offenbacher S, Jared HL, O'Reilly PG, Wells SR, Salvi GE, Lawrence HP, et al. Potential pathogenic mechanisms of periodontitis associated pregnancy complications. Ann Periodontol

- 1998;3:233-50.
- [15] Amar S, Han X. The impact of periodontal infection on systemic diseases. *Med Sci Monit* 2003;9:291-9.
- [16] Yun JH, Park JE, Kim DI, Lee SI, Choi SH, Jo GS, et al. Identification of putative periodontal pathogens in Korean chronic periodontitis patients. *J Periodontal Implant Sci* 2008;38:143-52.
- [17] Kim SM, Yang GH, Chio NG, Oh JS, Kang MS. Quantitative detection of periodontopathic bacteria using real-time PCR. *J Korean Acad Pediatr Dent* 2008; 35:494-503.
- [18] Kim SM, Yang GH, Chio NG, Oh JS, Kang MS. Periodontopathic bacteria in down's syndrome. *J Korean Acad Pediatr Dent* 2005;32:717-25.
- [19] Jang JY, Nam YS. Analysis of factors related to the dental caries and periodontal diseases of the elderly. *J Korean Soc Dent Hyg* 2012;12:1173-82.
- [20] Jang HK, Choi EM, Son BS. Oral health of the elderly people receiving nursing care and home care services in Chungnam. *J Korean Soc Dent Hyg* 2015;15:565-74. <https://doi.org/10.13065/jksdh.2015.15.04.565>
- [21] Fanny E, Martin S, Elena D, Sandra V, Giannelli, Christoph E, et al. Tooth loss, chewing efficiency and cognitive impairment in geriatric patients. *Gerodontology* 2015;32:149-56. <https://doi.org/10.1111/ger.12079>
- [22] Zambon JJ. Periodontal diseases: microbial factors. *Ann Periodontol* 1996;1:879-925. <https://doi.org/10.1902/annals.1996.1.1.879>
- [23] Jorm AF, Korten AE, Henderson AS. The prevalence of dementia: a quantitative integration of the literature. *Acta Psychiatry Scand* 1987;76:465-79.
- [24] Desrosiers M, Donegan SJ, Yepes JF, Kry-scio RJ. Tooth loss, dementia and neuropathology in the Nun study. *J Am Dent Assoc* 2007;138:1314-22.
- [25] Haffajee AD, Teles RP, Socransky SS. Association of eubacterium nodatum and treponema denticola with human periodontitis lesions. *Oral Microbiol Immunol* 2006;21:269-82.
- [26] Jeon MJ, Kim DK, Lee BJ. Oral health status of elderly long-term hospitalized patients with and without dementia in Jeollanam-do, South Korea. *J Korean Acad Dent Health* 2008; 32:299-308.
- [27] Dzink JL, Tanner AC, Haffajee AD, Socransky SS. Gram negative species associated with active destructive periodontal lesions. *J Clin Periodontol* 1985;12:648-59.