

의학 석사학위 논문

악관절 질환에게서 추출한  
관절낭액의 pro-inflammatory  
cytokine의 농도 변화

아주대학교 대학원

의학과/치의학전공

조영숙

악관절 질환에게서 추출한  
관절낭액의 pro-inflammatory  
cytokine의 농도 변화

지도교수 이 정 근

이 논문을 의학 석사학위 논문으로 제출함.

2009년 8월

아 주 대 학 교 대 학 원

의학과/치의학전공

조 영 숙

조영숙의 의학 석사학위 논문을 인준함.

심사위원장 이 정 근 인

심사위원 고 석 민 인

심사위원 송 승 일 인

아 주 대 학 교 대 학 원

2009년 6월 22일

## 감사의 글

이 논문이 나오기까지 부족한 저를 보살펴 주시고 후원해 주신 아주대 병원 치과 이정근 과장님과 고석민 교수님과 송승일 교수님을 비롯한 여러 교수님들께 감사드리고, 어려움을 마다하지 않고 실험에 함께 동참해 주신 고마운 후배 보건, 성현, 혜린, 세라님과 사랑하는 모든 후배분들께 감사드립니다. 응원해 주시고 기도해주신 나의 사랑하는 가족들께 감사드립니다.

- 국문요약 -

## 악관절 질환자에게서 추출한 관절낭액의 proinflammatory cytokine의 농도 변화

cytokine은 신호 전달 단백질의 하나로 이 분자들은 호르몬처럼 세포 간 정보 전달에 광범위하게 이용된다. TNF- $\alpha$ 는 염증과 관련되어 급성 반응을 나타내며 IL-6은 특정 미생물 물질에 반응하여 분비되어 proinflammatory cytokine으로 작용한다. 대개 이들의 level이 높은 경우는 악관절 질환의 증상과 큰 연관이 있다고 알려져 있다. 이들은 관절과 관련된 골 및 연골의 파괴를 촉진하여 악관절 질환과 관련하여 동통과 관절잡음 또는 개구량의 감소 등과 같은 임상적 증상과 징후를 나타내므로 악관절 질환 중 관절 내장증과 골관절염등과 주로 연관이 있다고 알려져 있다.

본 연구의 목적은 관절낭액 내의 TNF- $\alpha$ 와 IL-6의 분석을 통하여 두 물질의 농도와 동통 발생, 개구제한, 악관절 잡음 등의 임상 증상과의 상관 관계를 규명하는데 있다. 연구 재료는 5명의 정상인을 대조군으로, 아주대학 병원 치과에 동통과 개구제한을 주소로 내원하여 악관절 질환으로 진단된 환자 중 악관절 세척술의 적응증이 되는 24명을 실험군으로 하여 세척술 시 추출된 관절낭액을 이용하였다.

---

핵심어: 악관절 질환, TNF- $\alpha$ , IL-6, 동통, 개구제한, 관절잡음

# 차 례

국문요약 .....	i
차례 .....	ii
표 차례 .....	iii
I. 서론 .....	1
II. 연구대상 및 방법 .....	4
A. 환자와 임상적 평가 기준 .....	4
B. 실험 방법 .....	5
1. 약관절 낭액의 추출과 수집 .....	5
2. 분석 방법 .....	5
3. 자료 분석 .....	6
III. 결과 .....	7
A. 정상군과 비정상군의 비교 .....	9
B. 비정상군 내의 급성 환자와 만성 환자의 수치 비교 .....	10
C. 비정상군 중 개구제한이 있는 사람과 정상군과의 수치 비교 .....	11
D. 비정상군 중 개구제한이 있는 경우 만성과 급성 환자의 수치 비교 .....	12
E. 비정상군 중 술전에 관절잡음이 있는 사람과 정상군 비교 .....	13
F. 비정상군 중 관절잡음이 있는 사람의 만성과 급성의 수치 비교 .....	14
IV. 총괄 및 고찰 .....	15
V. 결론 .....	19
참고문헌 .....	20
ABSTRACT .....	27

## 표 차례

Table 1. Patient group and TNF- $\alpha$ and IL-6 values of respective patients .....	7
Table 2. Healthy group and TNF- $\alpha$ and IL-6 values of respective subjects .....	8
Table 3. Normal group and pain group and TNF- $\alpha$ and IL-6 values of respective subjects .....	9
Table 4. Acute pain and chronic pain and TNF- $\alpha$ and IL-6 values of respective subjects .....	10
Table 5. Normal group and mouth opening limitation group and TNF- $\alpha$ and IL-6 values of respective subjects .....	11
Table 6. Acute pain and chronic pain with mouth opening limitation and TNF- $\alpha$ and IL-6 values of respective subjects .....	12
Table 7. Normal group and TMJ clicking group and TNF- $\alpha$ and IL-6 values of respective subjects .....	13
Table 8. Acute pain and chronic pain with TMJ clicking and TNF- $\alpha$ and IL-6 values of respective subjects .....	14

## I. 서 론

악관절질환은 다인자 복합질환의 연속체로서 질환의 진행과 더불어 점진적인 퇴행성 변화를 초래한다. 신경근육성 부조화, 부정교합, 잘못된 수복물, 구강악습관, 외상, 정신적 스트레스 등 여러 소인들이 복합적으로 관련되어 있고 초기의 피막염이나 활막염에서부터 보다 진행된 형태의 악관절내장증을 거쳐 골변형을 야기하는 말기의 퇴행성골변화에 이르기까지 그 스펙트럼이 다양하다. 악관절질환의 증상을 유발하는 유발 요인으로는 안면부의 타격, 장시간의 입 벌림 등 일시적인 과부하와 구강 및 교합 이상으로 인한 지속적인 유해 하중이 있고, 환자의 장해를 연장시켜 복잡하게 만드는 지속 요인으로 이같이 등의 구강악습관으로 규정되는 행동 장애와 만성동통 환자에서 흔히 보이는 우울증, 불안 등의 사회심리적 장애가 여기에 포함된다. 관절강 내 부하의 증가로 인하여 혈류에 장애가 생기고 관절 조직의 산소포화도가 떨어지면 세포 및 세포외 기질의 회전을 감소하면서 노폐 물질이 저류되어 염증 반응이 나타나기 쉽게 된다. 병리학적인 기전은 잘 알려져 있지 않지만, proinflammatory cytokine은 중요한 급성, 만성 염증의 매개체로 골관절염과 류마티스 관절염처럼 급-만성 염증반응으로 관절을 파괴한다(Campos 등, 2006). 악관절질환은 그 진행 정도에 따라 활액의 상태가 다르게 나타난다고 보고되고 있다. 즉 피막염이나 활액막염 등 초기 병변에서 TNF- $\alpha$ 의 농도 증가가 보고되고 있으며(Emshoff 등, 2000) IL-6는 악관절강 내의 염증성 골 변화와 관련이 있는 것으로 보인다(Kaneyama 등, 2004). 활액내의 산화성 스트레스 또한 악관절에 영향을 끼치는 것으로 알려져 있다(Tomida 등, 2004).

악관절활액에서 IL-1(Kubota 등, 1997), IL-6(Fu 등, 1995)와 TNF- $\alpha$ (Fu



등, 1995; Shafer, 1994), IL-1 $\beta$ , INF- $\gamma$ , IL-8, IL-12, IL-10(Hamada 등, 2006) 같은 것들이 많이 발견된다고 알려져 있다. 악관절 염증반응 후 collagen과 proteoglycan 분해 효소가 활성화되고, IL-1이나 IL-6 등 내인성 cytokine이 분비되는데(Kubota 등, 1998), 이 중 IL-6는 악관절 내장증을 유발하는 요인으로 알려져 있다(Sandler 등, 1998). TNF- $\alpha$ 는 IL-1 $\beta$ 에 의해 생산이 증가되어 간접적으로 통각 수용체에 영향을 미치는 cytokine으로 악관절 질환의 동통을 유발하는 요인으로 잘 알려져 있다(Nodahl 등, 2000).

IL-6는 숙주 방어체계에서 중심으로 다기능적인 역할을 하는 물질로, 단핵구/대식세포와 T-세포, 섬유아세포, 내피세포에서 생산되며, 이는 T-림프구의 분화를 촉진시키는 것으로 알려져 있고, B-림프구의 분화와 보체의 cascade 활동에 영향을 미친다. 또 IL-1 $\beta$ 와 상승작용으로 글로블린을 야기한다. 이는 IL-6 수용체와 gp130이라는 신호전달단백으로 구성된 두 분자복합체에 부착된 후에 생물학적으로 활성화된다.

TNF- $\alpha$ 는 활성화된 대식세포와 단핵구를 포함한 여러 세포에서 생산되며, TNF- $\alpha$  receptor는 내피세포와 Schwann 세포를 비롯한 대부분의 세포에서 발견된다(Vilcek와 Lee, 1991; Wagner와 Myers, 1996). 활액에서 TNF- $\alpha$ 의 생화학적 기전은 활액세포에 의해 국소적으로 생산되며 IL-1, granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF), prostaglandin E2, IL-6와 같은 다른 procytokine들의 생산을 촉진하는 역할을 한다. TNF- $\alpha$ 는 TNFR(tumor necrosis factor receptor)1과 2에 의해 조절되고 매개되는데, 악관절의 염증시에 섬유연골을 파괴하는 역할을 한다. TNF- $\alpha$ 와 IL-6등을 비롯한 여러 proinflammatory cytokine은 염증성 질환의 개시와 악화에 관련되어 있지만 그 중 유일하게 세포자멸사(apoptosis)에 관련된 것은 수용체에 의해 직접 활성화된 TNF- $\alpha$ 이다

(Vassalli, 1992; Vandenabeele 등, 1995; Bazzoni와 Beutler, 1996; Darnay와 Aggarwal, 1999; Wallach, 1999).

본 연구는 아주대 병원의 악관절 증상이 있는 환자 중 악관절 내장증이나 골관절염의 소견이 의심되는 24명의 환자를 대상으로 그 증상을 크게 동통, 개구 제한, 악관절 잡음으로 분류하여, 동통을 유발한다고 알려진 TNF- $\alpha$ 와 관절의 구조적 변화를 유발하여 개구제한과 악관절 잡음을 일으킨다고 알려진 IL-6의 proinflammatory cytokine의 수치를 정상군과 비교하여, 각 수치와 임상적 증상과의 연관성을 규명하고자 하였다.

## II. 연구 대상 및 방법

### A. 환자와 임상적 평가 기준

기본적으로 동통을 동반한 악관절 증상이 있는 비정상군 24명의 편측 악관절에서 관절낭액을 추출하였고, 증상이 없는 정상군 5명의 편측 악관절에서 관절낭액을 추출하여 증상에 따른 두 집단의 TNF- $\alpha$  수치와 IL-6수치를 비교하기로 하였다. 비정상군 선정의 기준은 악관절 질환 증상 중 동통이나 개구제한이나 관절잡음이 있는 경우를 대상으로 하였고, 정상군 선정의 기준은 이제까지 악관절 동통을 경험해 보지 못하였고, 개구량이 40mm 이상, 양측 악관절에서 과두걸림의 경험을 해보지 못하였고 소리가 나지 않는 환자를 대상으로 하였다. 통계적 수치를 비교하기 위하여 크게 동통(P-pain: Pa-급성 + Pc-만성), 개구제한(L-mouth opening limitation), 악관절 잡음(C-clicking)으로 세분하였다. 비정상군 24명 모두가 동통이 있었고, 그 중 증상이 6개월 이내의 급성 동통(Pa-acute pain)을 호소한 경우가 14명, 만성 동통(Pc-chronic pain)을 호소한 경우가 10명이었다. 비정상군 중 동통과 개구제한(PL+ PLC)을 동반한 경우가 20명이었고, 그 중 개구제한이 있으면서 급성동통을 동반한 경우(PaL)가 11명, 만성동통을 동반한 경우(PcL)가 9명이었다. 또, 비정상군 중 동통과 관절잡음(PC+PCL)을 동반한 경우가 13명이었는데 이 중 급성동통을 동반한 경우(PaC)가 7명, 만성동통을 동반한 경우(PcC)가 6명이었다.

염증 반응에 의한 동통을 유발하는 물질인 TNF- $\alpha$ 와 IL-6를, 동통 및 다른 임상적 양상들, 즉 정상인 경우와 동통과 개구제한을 동반한 경우, 정상인 경우와 동통과 관절잡음이 있는 경우를 비교하고, 각 수치에서 급성과 만성인 경우를

각각 비교하여 수치적인 통계적 상관관계가 있는지 확인하고자 하였다.

## B. 실험 방법

### 1. 악관절 낭액의 추출과 수집

증상이 있는 환자의 편측 악관절에 1:10만 epinephrine이 함유된 2% lidocaine 0.5 ample로 국소마취를 시행하고, 18-gauge 주사침을 이용하여 관절낭 내로 자입한 후 2~5mL의 생리식염수를 관절낭 내로 주입하고, 5회의 pumping action을 통하여 관절낭액과 생리식염수를 섞은 후 0.3~2mL의 희석액을 흡인하였고, polypropylene tube에 담아 원심분리를 시행한 후 Enzyme-linked immunosorbent serologic assay (ELISA)를 시행하기까지 -20℃의 냉동 보관을 시행하였다.

### 2. 분석 방법

TNF- $\alpha$ 와 IL-6의 분석에 ELISA kit (Quantikine<sup>®</sup> High sensitivity human IL-6, R&D System Inc. Minneapolis, MN 55413 USA)가 사용되었다. ELISA는 sandwich enzyme immunoassay 원리의 정량적인 검사법이다. 특정 cytokine의 monoclonal antibody가 코팅된 microplate에 표준액과 검체를 넣어, cytokine과 결합시켜 고정화된 항체로 만든 후에 세정과정을 통해 비결합된 물질을 제거하고 해당 cytokine에 특이적인 enzyme-linked polyclonal antibody를 각 well에 첨가한다. 비결합된 antibody-enzyme을 제거하고, substrate solution을 첨가하면 해당 cytokine 결합물질은 발색을 나타낸다. 발색 정지액을 넣어 발색을 중지

시킨 후 흡광도를 읽어 농도를 분석한다. 수치상의 오류를 줄이기 위하여 각 검체마다 TNF- $\alpha$ 와 IL-6를 각각 두 번씩 수치를 측정하였고 표본으로 평균치를 사용하였다.

### 3. 자료 분석

악관절 체계에서 cytokine은 연골과 골을 파괴하는 매개체로 작용하고, 동통을 야기하는 염증과정을 개시, 지속하는 역할을 하는데(Fermor 등, 2004; Fernandes 등, 2002; LeGrand 등, 2001; McDvitt와 Miller; 1989) 이 중 TNF- $\alpha$ 와 IL-6가 동통뿐 아니라 악관절 질환의 다른 임상적 양상들과 관계가 있는지 확인하고자 하였다. 신뢰구간을 95%로, 유의확률(p)을 0.05 이하로 한 t-test를 사용하여 분석하였다. 분석 내용은 다음과 같다.

- A) 악관절 질환 증상이 있는 비정상군(Pa+Pc)과 정상군의 수치상 차이가 있는가?
- B) 비정상군 내에서 급성환자(Pa)와 만성환자의(Pc) 수치상 차이가 있는가?
- C) 비정상군 중 개구제한(L)이 있는 사람과 정상군과의 수치상 차이가 있는가?
- D) 비정상군 중 개구제한이 있는 경우 급성환자(PaL)와 만성환자(PcL)의 수치상 차이가 있는가?
- E) 비정상군 중 술 전에 관절잡음(C) 있는 사람과 정상군의 수치상 차이가 있는가?
- F) 비정상군 중 관절잡음이 있는 사람 중 급성환자(PaC)와 만성환자(PcC)의 수치상 차이가 있는가?

### Ⅲ. 결 과

Table 1. Patient group and TNF- $\alpha$  and IL-6 values of respective patients.

Patient No.	Nature of symptoms	TNF- $\alpha$ (pg/ml)	IL-6 (pg/ml)
1	PaC	0.35	39.32
2	PaL	0.34	0.17
3	Pa	0.32	5.94
4	Pc	0.39	5.94
5	PcLC	0.48	1.57
6	PcLC	0.34	0.51
7	PaLC	0.36	3.29
8	PaLC	0.48	0.32
9	PaLC	0.39	47.4
10	PcL	0.39	0.59
11	PcL	0.39	0.21
12	PaL	0.38	0.4
13	PcLC	0.3	0.16
14	PaL	0.34	0.2
15	PcLC	0.41	0.17
16	PaC	0.42	0.19
17	PcLC	0.36	0.15
18	PaL	0.46	0.79
19	PcL	0.35	0.16
20	PaLC	0.51	0.39
21	PaLC	0.39	0.2
22	PcLC	0.35	0.16
23	PaL	0.36	0.15
24	PaL	0.43	0.22
<b>Mean</b>		0.387083333	4.525
<b>Standard deviation</b>		0.053688244	12.13564387

Pa: acute pain (onset within 6months ago)    Pc: chronic pain (onset over 6 months)  
 L: mouth opening limitation                    C: clicking

Table 2. Healthy group and TNF- $\alpha$  and IL-6 values of respective subjects.

Subject No.	Nature of symptoms	TNF- $\alpha$ (pg/ml)	IL-6 (pg/ml)
1	N	0.38	0.16
2	N	0.33	0.15
3	N	0.33	0.15
4	N	0.36	0.13
5	N	0.38	0.14
<b>Mean</b>		0.356	0.146
<b>Standard Deviation</b>		0.025099801	0.011401754

N: normal without symptom

## A. 정상군과 비정상군의 비교 (동통의 유무에 따름)

Table 3. Normal group and pain group and TNF- $\alpha$  and IL-6 values of respective subjects.

	Group subunits	N	Average (pg/mL)	Standard deviation	P-value
TNF- $\alpha$	normal	5	.356	.025	.190
	Pa+Pc	24	.387	.054	
IL-6	normal	5	.146	.011	.152
	Pa+Pc	24	4.525	12.136	

통계적 검증 결과 비정상군의 평균치가 정상군의 수치에 비해 더 높았으나 통계적으로 유의성은 없었다. (pTNF- $\alpha$ =0.190, pIL-6=0.152)



## B. 비정상군 내의 급성 환자와 만성 환자의 수치 비교

Table 4. Acute pain and chronic pain and TNF- $\alpha$  and IL-6 values of respective subjects.

	Group subunits	N	Average (pg/mL)	Standard deviation	P-value
TNF- $\alpha$	Pa	14	.395	.015	.424
	Pc	10	.376	.015	
IL-6	Pa	14	7.070	4.154	.017
	Pc	10	.962	.570	

비정상군 내에서 급성 환자와 만성 환자의 통계적 수치의 검증 결과

### 1) TNF- $\alpha$

급성군의 평균치가 만성군 수치에 비해 더 높았으나 통계적으로 유의성은 없었다. (pTNF- $\alpha$ =0.424)

### 2) IL-6

급성군의 평균치가 만성군에 비하여 통계적으로 유의성있게 높았다. (pIL-6=0.017)

### C. 비정상군 중 개구제한이 있는 사람과 정상군의 수치 비교

Table 5. Normal group and mouth opening limitation group and TNF- $\alpha$  and IL-6 values of respective subjects.

	Group subunits	N	Average (pg/mL)	Standard deviation	P-value
TNF- $\alpha$	Normal	5	.356	.025	.179
	PLC+PL	20	.391	.056	
IL-6	Normal	5	.146	.011	.306
	PLC+PL	20	2.861	10.509	

비정상군 중 개구제한이 있는 사람과 정상군과의 통계학적인 비교 결과 비정상군중 개구제한이 있는 환자의 TNF- $\alpha$ 와 IL-6 수치의 평균치가 정상군의 수치에 비해 더 높았으나 통계적으로 유의성은 없었다. (pTNF- $\alpha$ =0.179, pIL-6=0.306)

## D. 비정상군 중 개구제한이 있는 경우 만성과 급성 환자의 수치 비교

Table 6. Acute pain and chronic pain with mouth opening limitation and TNF- $\alpha$  and IL-6 values of respective subjects.

	Group subunits	N	Average (pg/mL)	Standard deviation	P-value
TNF- $\alpha$	PaLC+PaL	11	.404	.058	.466
	PcLC+PcL	9	.374	.051	
IL-6	PaLC+PaL	11	4.866	14.136	.072
	PcLC+PcL	9	.409	.466	

개구제한이 있는 비정상군 중 만성과 급성 환자의 통계학적 검사 비교 결과 비정상군의 개구제한이 있는 환자 중 급성인 경우의 TNF- $\alpha$ 와 IL-6의 평균치가 만성인 경우에 비해 더 높았으나 통계적으로 유의성은 없었다. (pTNF- $\alpha$ =0.466, pIL-6=0.072)

## E. 비정상군 중 술전에 관절잡음 있는 사람과 정상군 비교

Table 7. Normal group and TMJ clicking group and TNF- $\alpha$  and IL-6 values of respective subjects.

	Group subunits	N	Average (pg/mL)	Standard deviation	P-value
TNF- $\alpha$	Normal	5	.356	.025	.095
	PLC+PC	13	.395	.063	
IL-6	Normal	5	.146	.011	.046
	PLC+PC	13	7.218	16.149	

비정상군 중 술전에 관절 잡음 있는 사람과 정상군의 통계학적 수치 결과

### 1) TNF- $\alpha$

비정상군의 관절잡음이 있는 환자의 TNF- $\alpha$ 의 평균치가 정상군의 수치에 비해 더 높았으나 통계적으로 유의성은 없었다.

(pTNF- $\alpha$ =0.095)

### 2) IL-6

비정상군의 관절잡음이 있는 환자의 평균치가 정상군의 수치에 비해 통계적으로 유의성있게 높았다. (pIL-6=0.046)

## F. 비정상군 중 관절 잡음이 있는 사람의 만성과 급성의 수치 비교

Table 8. Acute pain and chronic pain with TMJ clicking and TNF- $\alpha$  and IL-6 values of respective subjects.

	Group subunits	N	Average (pg/mL)	Standard deviation	P-value
TNF- $\alpha$	PaLC+PaC	7	.414	.060	.999
	PcLC+PcC	6	.373	.063	
IL-6	PaLC+PaC	7	13.016	20.889	.001
	PcLC+PcC	6	.453	.565	

비정상 군중 관절 잡음이 있는 사람의 만성과 급성의 수치 결과

### 1) TNF- $\alpha$

비정상군의 관절잡음이 있는 환자 중 급성인 경우가 만성인 경우에 비해 TNF- $\alpha$ 의 평균치가 더 높았으나 통계적으로 유의성은 없었다. (pTNF- $\alpha$ =0.999)

### 2) IL-6

비정상군의 관절잡음이 있는 환자 중 급성인 경우가 만성인 경우에 비해 IL-6의 수치가 통계적으로 유의성 있게 높았다. (pIL-6=0.001)

## IV. 총괄 및 고찰

우리 몸의 어떤 과정에서 작용하느냐에 따라 같은 cytokine이라도 다르게 기능할 수 있다. 호르몬과 반대로 cytokine은 국소적으로 활동하고 주로 세포의 스트레스에 반응한다(Dinarello, 2000). 악관절의 활액낭 세포에 가해진 스트레스는 TNF- $\alpha$ 와 IL-6 같은 proinflammatory cytokine을 생산할 수 있다. 악관절 질환의 증상은 동통과 기능장애인데 이는 기본적으로 염증 증상이다. proinflammatory cytokine은 급성, 만성 염증 반응에 중요한 polypeptide mediator로 알려져 있고, 염증 반응으로 인한 악관절 동통과 악관절의 구조적 변화와 개구제한을 야기하는 것으로 알려져 있다. 악관절 체계에서 cytokine은 연골과 골을 파괴하는 매개체로 작용하고, 동통을 야기하는 염증과정을 개시하고 지속하는 역할을 한다(Fermor 등, 2004; Fernandes 등, 2002; LeGrand 등, 2001; McDvitt와 Miller; 1989).

TNF- $\alpha$ 는 류마티스성 관절염 환자의 활막과 활액 뿐아니라 건선관절염, 골반척추염, 골관절염과 반응성 관절염 등의 환자에서도 발견되고, 악관절의 골관절염과 악관절 내장증의 경우 관절낭액에서 발견된다(Chu 등, 1991; Westacott 등, 1990; Neidel 등, 1995; Partsch 등, 1997; Shafer 등, 1994; Sandler 등, 1998). TNF- $\alpha$ 의 하위 수준에 있는 NF $\kappa$ B가 염증에 반응하는 유전자 복사의 핵심조절자로 보인다(Hayden와 Ghosh, 2004). 또 세포핵에서는 NF $\kappa$ B의 활성화와 전좌는 TNF- $\alpha$ 를 포함한 다양한 proinflammatory gene의 복사를 동반한다(Wright 등, 2002). Nordabl 등은 관절염과 같은 결합조직질환이 있는 환자 중 악관절 동통이 있는 경우와 없는 경우 환자의 혈장과 악관절 낭액을 채취하여 분석한 결과 동통이 있는 악관절 낭액에서 채취한 TNF- $\alpha$ 의 수치가 환자의 혈장의 TNF- $\alpha$ 수치

보다 월등히 높음을 보고하였다(Nordabl 등, 2000). 따라서 동통을 유발하는 proinflammatory cytokine이 국소적으로 상승된 농도는 그 부위의 동통을 유발하는데 영향을 미친다고 할 수 있겠다.

IL-6는 패혈증 같은 부패성 염증의 상태나 류마티스성 관절염 같은 무균성 염증에서 증가된다(Mastorakos와 Iias, 2006). IL-6는 염증을 매개하는 cytokine으로 악관절 내장증과 악관절의 골관절염 환자에게서 나타나며, 주로 단핵구와 대식세포에서 생산되며 활막의 섬유모세포와 연골세포에서 생산되고, 활막에 침투된다(Kubota 등, 1998). 활막에 염증이 생길 경우 관절낭액의 점도가 변하고 관절 연골과 관절원판의 영양 공급과 관절유희에 장애가 생긴다(Takahashi 등, 1998; Kaneyama 등, 2002). IL-6와 IL-1처럼 내인성으로 생산된 cytokine들은 cathepsin B와 D와 다른 collagenase 같은 proteinase의 방출을 유도하여 직접적으로 조직의 손상에 영향을 미치는 것으로 보인다(Hamada 등, 2003; Hamada 등, 2005; Nitzan 등, 2001). IL-6의 생산은 물리적인 스트레스 뿐 아니라 정신적인 스트레스에 의해서도 촉진된다(Van Gool 등, 1990; Soszynski 등, 1996).

이렇듯 다면적인 영향을 받는 cytokine은 일반적으로 면역체계의 매개와 조직 손상을 억제하고, 조직을 재구성하는 등 숙주의 생존에 유익한 역할을 하기도 하지만, 조금이라도 증가하거나 증가된 상태가 지속된 경우 면역체계를 변화시키고 조직을 병적으로 변화시킨다(Sandler 등, 1998). 이들은 collagenase 생산과 prostaglandin 합성과 osteoclast의 활성화를 유도하고, 결과적으로 악관절 질환의 증상을 야기시킨다.

이 모든 것을 고려한 우리의 관심은 염증 반응에 의해 동통을 유발하는 물질로 널리 알려진 proinflammatory cytokine 중 대표적인 TNF- $\alpha$ 와 IL-6을 관절낭내에서 추출하여 악관절질환자와 정상군과의 수치 차이를 통한 동통과 개구제

한 및 관절잡음과의 연관성을 확인함으로써 이들 두 cytokine들의 진단표지자로서의 가능성을 점검해보는 것이었다.

Takahashi는 ELISA를 이용한 악관절낭액 연구에서 악관절 환자군의 62개 악관절에서 각각 TNF- $\alpha$ 와 IL-6가 단지 5(8.1%)와 13(21%)으로 양성을 보였다고 하였다(Takahashi, 1998). 그러나 이 연구의 양성의 결과 기준은 TNF- $\alpha$ 와 IL-6가 각 100pg/ml와 2pg/ml 였으며 최근 기술의 발달에 의해 이전에 음성으로 여겨지던 수치들도 양성의 결과로 식별하고 있는 추세이다.

두통의 심각한 형태의 한 종류로, New daily persistent headache (NDPH)에서 TNF- $\alpha$ 의 수치는 정상 혈청 수치에 반해 CSF에서 높게 발견되었다(Todd Rozen, 2007). CSF에서 지속적으로 증가된 TNF- $\alpha$ 는 두통의 이러한 형태의 난치적 특성을 야기하는 것으로 추정되는 것과 같이 관절낭액 내에서 증가된 proinflammatory cytokine의 증가된 수치가 만성적이고도 투약에도 난치성의 특징이 있는 악관절 질환 동통을 야기하는 요소인 것으로 여겨진다. 우리의 연구에서 TNF- $\alpha$ 의 수치는 환자군에서 증가되어 있었으나 통계학적 유의성은 발견할 수 없었다( $p=0.05$ ).

연구자 사이에서 환자군과 대조군과 연구계획에 따른 차이로 인해 연구들 사이의 직접적인 비교는 제한적이다. 우리는 관절액의 proinflammatory cytokine의 연구에 동일한 방법의 ELISA를 적용하였지만 이전의 연구들과 결과는 같지 않았다(Kubota 등, 1997; Takahashi, 1998). ELISA의 감수성에 가장 영향을 끼치는 단계는 항체에 노출되는 단계인데 일반적으로 ELISA의 감수성이 생물학적 정량(bioassay)보다 낮은 것으로 알려져 있다(Whiteside, 1994). 우리 연구에서 평균수치는 실험군에서 TNF- $\alpha$ 와 IL-6가 각각 0.39pg/ml와 4.53pg/ml였으며, 대조군은 실험군에 비해 TNF- $\alpha$ 와 IL-6가 각각 0.36pg/ml와 0.51pg/ml로 나타났다.



Kubota의 연구에서 악관절 질환자의 악관절낭액에서 IL-1 $\beta$ 의 평균수치는 1,442.8 $\pm$ 2,043.8pg/ml였던 반면, 악관절환자의 62개 악관절 대상의 Takahashi의 연구에서 IL-1, IL-6와 TNF- $\alpha$ 의 양성 결과는 18(29%), 13(21%), 5(8.1%)였다 (Takahashi, 1998). 우리는 이전의 연구들보다 농도가 더 높은 것을 입증하였으나 환자군보다 적은 수임에도 불구하고 건강한 대조군 역시 수치가 증가되어 있었다. 이는 아마도 ELISA를 이용한 각 연구마다 타고난 감수성의 차이에 의한 것으로 보인다.

통계상으로 볼 때 평균치로는 정상군에 비해 비정상군에서 TNF- $\alpha$ 와 IL-6의 수치가 더 높았는데, 두 수치 모두가 만성 보다 급성일 경우와, 개구제한이 있을 경우와 관절접음이 있는 경우가 평균 수치상 더 높았다. 정상군과 비정상군의 차이는 TNF- $\alpha$ 보다 IL-6의 수치에서 더 큰 폭으로 나타났다. 타 문헌들과 달리 TNF- $\alpha$ 의 수치에서는 유의성( $\alpha < 0.05$ )을 발견할 수 없었는데 악관절 낭액의 추출시 생리식염수의 주입시에 관절낭 상태에 따라 유착의 정도에 따라 생리식염수의 양이 각기 다르게 들어갔고, 관절 유착의 정도에 따라 흡인되는 양도 차이가 있었기에 실험군의 각 개체에서 동일한 조건 하에서의 추출이 어려웠다는 것이 원인일 것이다. 추후 연구에서 보완할 점은 비정상군 내에서 동일한 조건하의 검체 채취와 악관절에 자입되는 생리식염수의 양이 동일해야 하고, 균일하게 희석이 되어야 하겠고, 채취되는 양 또한 자입되는 양과 거의 동일해야 할 것으로 생각되며, 채취된 검체의 균질성이 보장되어야 하겠고, 더 많은 개체수를 확보하는 것이 좋을 것으로 사료된다.

## V. 결 론

악관절 질환의 표지자로서의 가능성을 내포한 많은 후보 물질 중 악관절 질환 혈액의 TNF- $\alpha$ 와 IL-6 평가 결과, 정상군에 비해 환자군에서 두 수치 모두 증가되어 있었지만 TNF- $\alpha$ 에서 통계학적 유의성은 없는 것으로 판별되었다. 그러나 IL-6 수치에서 급성 동통이 있는 경우가 만성 동통이 있는 경우에 비해 수치가 통계적으로 유의하게 높았고, 정상군에 비해 동통을 동반한 관절잡음이 있는 경우와 급성동통을 동반한 관절잡음이 있는 사람의 경우 IL-6 수치가 통계적으로 유의하게 높은 점을 통하여 IL-6은 악관절 질환의 급성 염증과 구조적 변화의 진단표지자로서의 가치가 있다고 결론지을 수 있었다.

## 참 고 문 헌

1. Bazzoni F, Beutler B: The tumor necrosis factor ligand and receptor families. *N Engl J Med* 334: 1717-1725, 1996
2. Campos MIG, Campos PSF, Line SRP: Inflammatory cytokines activity in temporomandibular joint disorders; a review of literature. *Braz J Oral Sci* 18: 1054-1062, 2006
3. Chu CQ, Field M, Feldmann M: Localization of tumor necrosis factor alpha in synovial tissues and at the cartilagepannus junction in patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 34: 1125-1132, 1991
4. Darnay BG, Aggarwal BB: Signal transduction by tumor necrosis factor and tumor necrosis factor related ligands and their receptors. *Ann Rheum Dis* 58(suppl 1): I2-I13, 1999
5. Dinarello CA: Proinflammatory Cytokines. *Chest* 118: 503-8, 2000
6. Emshoff R, Puffer P, Rudisch A, Gassner R: Temporomandibular joint pain: relationship to internal derangement type, osteoarthritis, and synovial fluid mediator level of tumor necrosis factor- $\alpha$ . *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 90: 442-449, 2000
7. Fermor B, Jeffcoat D, Hennerbichler A, Pisetsky DS, Weinberg JB, Guilak F: The effects of cyclic mechanical strain and tumor necrosis factor alpha on the response of cells of the meniscus. *Osteoarthritis*

*Cartilage* 12: 956–962, 2004

8. Fernandes JC, Martel-Pelletier J, Pelletier JP: The role of cytokines in osteoarthritis pathophysiology. *Biorheology* 39: 237–246, 2002
9. Fu K, Ma X, Zhang Z, Pang X, Chen W: Interleukin-6 in synovial fluid and HLA-DR expression in synovium from patients with temporomandibular disorders. *J Orofac Pain* 9: 131–137, 1995
10. Fu K, Ma X, Zhang Z, Chen W: Tumor necrosis factor in synovial fluid of patients with temporomandibular disorders. *J Oral and Maxillofac Surg* 53: 424–426, 1995
11. Hamada Y, Kondoh T, Holmlund AB, Iino M, Nakajima T, Seto K: Visually guided temporomandibular joint irrigation in patients with chronic closed lock : clinical outcome and its relationship to intraarticular morphologic changes. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 95: 552–558, 2003
12. Hamada Y, Kondoh T, Holmlund AB, Iino M, Kobayashi K, Seto K: Influence of arthroscopically observed fibrous adhesions before and after joint irrigation on clinical outcome in patients with chronic closed lock of the temporomandibular joint. *Int J Oral Maxillofac Surg* 34: 727–732, 2005
13. Hamada Y, Kondoh T, Holmlund AB, Yamamoto M, Horie A, Saito T, Ito K, Seto K, Sekiya H: Inflammatory cytokines correlated with clinical outcome of temporomandibular joint irrigation in patients with chronic closed lock. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 102: 596–601, 2006

14. Hayden MS, Ghosh S: Signaling to NF- $\kappa$ B. *Genes Dev* 18: 2195-2224, 2004
15. Kaneyama K, Segami N, Nishimura M, Suzuki T, Sato J: Importance of proinflammatory cytokines in synovial fluid from 121 joints with temporomandibular disorders. *Br J Oral Maxillofac Surg* 40: 418-423, 2002
16. Kaneyama K, Sgami N, Sato J, Nishimura M, Yoshimura H: Interleukin-6 family of cytokines as biochemical markers of osseous changes in the temporomandibular joint disorders. *Br J Oral Maxillofac Surg* 42: 246-250, 2004
17. Kubota E, Imamura H, Kubota T, Shibata T, Murakami K: Interleukin 1 $\beta$  and stromelysin (MMP3) activity of synovial fluid as possible markers of osteoarthritis in the temporomandibular joint. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery* 55: 20-27, 1997
18. Kubota E, Kubota T, Matsumoto J, Shibata T, Murakami KI: Synovial fluid cytokines and proteinases as markers of temporomandibular joint disease. *J Oral Maxillofac surg* 56: 192-198, 1998
19. LeGrand A, Fermor B, Fink C, Pisetsky DS, Weinberg JB, Vail TP, Guilak F: Interleukin-1, tumor necrosis factor alpha, and interleukin-17 synergistically up-regulate nitric oxide and prostaglandin E2 production in explants of human osteoarthritic knee menisci. *Arthritis Rheum* 44: 2078-2083, 2001

20. Mastorakos G, Ilias I: Interleukin-6. *Ann NY Acad Sci* 1088: 373-381, 2006
21. McDvitt CA, Miller RR: Biochemistry, cell biology, and immunology of osteoarthritis: *Curr opin Rheumatol* 1: 303-314, 1989
22. Neidel J, Schulze M, Lindschau J: Association between degree of bone-erosion and synovial fluid-levels of tumor necrosis factor alpha in the knee-joints of patients with rheumatoid arthritis. *Inflamm Res* 44: 217-221, 1995
23. Nitzan DW, Price A: The use of arthrocentesis for the treatment of osteoarthritic temporomandibular joints. *J Oral Maxillofac Surg* 59: 1154-1159, 2001
24. Nordabl S, Alstergren P, Kopp S: Tumor necrosis factor-alpha in synovial fluid and plasma from patients with chronic connective tissue disease and its relation to temporomandibular joint pain. *J Oral maxillofac surg* 58: 525-530, 2000
25. Partsch G, Steiner G, Leeb BF, Dunky A, Broll H, Smolen JS: Highly increased levels of tumor necrosis factor-alpha and other proinflammatory cytokines in psoriatic arthritis synovial fluid. *J Rheumatol* 24: 518-523, 1997
26. Robert Spears, Raenie Oakes, Larry L. Bellinger, Bob Hutchins: Tumor necrosis factor- $\alpha$  and apoptosis in the rat temporomandibular joint. *Archives of Oral Biology* 48: 825-834, 2003

27. Rozen T, Swidan SZ: Elevation of CSF Tumor Necrosis Factor  $\alpha$  levels in New Daily Persistent Headache and Treatment Refractory Chronic Migraine. *Headache: Headache* 47:1050-1055, 2007
28. Sandler NA, Buckley MJ, Cillo JE, Braun TW: Correlation of inflammatory cytokines with arthroscopic findings in patient with temporomandibular joint internal derangements. *J Oral Maxillofac Surg* 56: 534-543, 1998
29. Shafer DM, Assael L, White LB, Rossmando EF: Tumor necrosis factor- $\alpha$  as a biochemical marker of pain and outcome in temporomandibular joints with internal derangement. *J Oral Maxillofac Surg* 52: 786-791, 1994
30. Soszynski D, Kozak W, Conn CA, Rudolph K, Kluger MJ: Beta-adrenoceptor antagonists suppress elevation in body temperature and increase in plasma IL-6 in rats exposed to open field. *Neuroendocrinology* 63: 459-467, 1996
31. Takahashi T, Kondoh T, Fukuda M, Tamazaki Y, Toyosuki T, Suzuki R: Proinflammatory cytokines detectable in synovial fluids from patients with temporomandibular disorders. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 85: 135-341, 1998
32. Tomida M, Ishimaru JI, Murayama K, Kajimoto T, Kurachi M, Era S, Shibata T: Intra-articular oxidative state correlated with the pathogenesis of the temporomandibular joint. *Br J Oral Maxillofac Surg* 42: 405-409, 2004

33. Van Gool J, Van Vugt H, Helle M, Aarden LA: The relation among stress, adrenalin, interleukin 6 and acute phase proteins in the rat. *Clin Immunol Immunopathol* 57: 200-210, 1990
34. Vandenabeele P, Declercq W, Beyaert R, Fiers W: Two tumor necrosis factor receptors: structure and function. *Trends Cell Biol* 5: 392-399, 1995
35. Vassalli P: The pathophysiology of tumor necrosis factors. *Annu Rev Immunol* 10: 411-452, 1992
36. Vilcek J, Lee TH: Tumor necrosis factor: New insights into the molecular mechanism of its multiple actions. *A Biol Chem* 266: 7313-7316, 1991
37. Wagner R, Myers RR: Schwann cells produce tumor necrosis factor alpha: Expression in injured and non-injured nerves. *Neuroscience* 73: 625-629, 1996
38. Wallach D, Varfolomeev EE, Malinin NL, Goltsev YV, Kovalenko AV, Boldin MP: Tumor necrosis factor receptor and Fas signaling mechanisms. *Ann Rev Immunol* 17: 331-367, 1999
39. Westacott CI, Whicher JT, Barnes IC, Thompson D, Swan AJ, Dieppe PA: Synovial fluid concentration of five different cytokines in rheumatic diseases: *Ann Rheum Dis* 49: 676-681, 1990
40. Whiteside TL: Cytokine measurements and interpretation of cytokine assays in human disease. *J Clin Immunol* 14: 327-339, 1994
41. Wright G, Singh IS, Hasday JD, Farrance IK, Hall G, Cross AS, Rogers



TB: Endotoxin stress-response in cardiomyocytes: NF- $\kappa$ B activation and tumor necrosis factor- $\alpha$  expression. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 282: H872-H879, 2002

-ABSTRACT-

## Proinflammatory cytokine concentration change of the synovial fluid of TMD patients

Cytokines are a category of signalling proteins and glycoproteins that like hormones are used extensively in cellular communications. TNF- $\alpha$  is a cytokine involved in systemic inflammation and is a member of a group of cytokines that all stimulate the acute phase reaction. IL-6 can be secreted in response to specific microbial molecules and acts as a proinflammatory cytokine. High levels of these cytokines are generally known to be related to symptomatic temporomandibular disorders. They promote joint destruction involved with bone and cartilages and cause sign and symptoms of temporomandibular disorders such as pain, joint sounds, and mouth opening limitation, which causes these molecules to relate to internal derangement of TMJ or osteoarthritis among other temporomandibular disorders.

The purpose of this study was to examine the relationship of the level of TNF- $\alpha$  and IL-6 to the clinical symptoms of internal derangement of TMJ or osteoarthritis such as pain, mouth opening limitation, and TMJ clicking by analysis of the level of these molecules in the synovial fluid. Twenty four patients were selected as experimental group who resorted to Department of Dentistry, Ajou University Hospital with the chief complaint of pain and mouth opening limitation and diagnosed as temporomandibular

disorder to be indicated for joint lavage, as compared with the 5 normal control group.

---

Key words : temporomandibular disorder, TNF- $\alpha$ , IL-6, pain, mouth opening limitation, TMJ clicking