



## 저작자표시 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.
- 이차적 저작물을 작성할 수 있습니다.
- 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 [이용허락규약\(Legal Code\)](#)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

[Disclaimer](#) 

치의학석사 학위논문

진단액으로서  
타액의 고찰

구강 질환 및 전신 질환의 진단

2014년 2월

서울대학교 치의학대학원

치 의 학 과

김 도 윤

# 진단액으로서 타액의 고찰

구강 질환 및 전신 질환의 진단

지도 교수 박 경 표

이 논문을 치의학석사 학위논문으로 제출함  
2013년 12월

서울대학교 치의학대학원  
치학과  
김 도 윤

김도윤의 치의학석사 학위논문을 인준함  
2014년 2월

위 원 장 \_\_\_\_\_ 이 성 중 (인)

부위원장 \_\_\_\_\_ 박 경 표 (인)

위 원 \_\_\_\_\_ 최 세 영 (인)

# 초 록

## 진단액으로서 타액의 고찰

### 구강 질환 및 전신 질환의 진단

김도윤

서울대학교 치의학대학원

치 의 학 과

타액은 구강 내에서 치아를 보호하고 음식의 맛을 느끼도록 돕고 연하를 돕는 역할을 하는 체액이다. 하지만 타액이 진단액으로서 가능성과 혈액에 비하여 장점을 가지는데도 불구하고 여전히 진단을 위한 체액으로 가장 일반적으로 선택되는 것은 혈액이다. 타액은 채집이 간편하고 비침습적이며 전문적으로 훈련 받은 사람이 채집할 필요가 없다는 장점이 있다. 또한 타액은 혈액에 비하여 채집 비용이나 채집 후의 관리 비용이 더 저렴하다는 장점이 있다. 그러나 혈액에 비하여 질병을 진단하는데 사용하는 구성 성분의 농도가 낮기 때문에 과거의 연구에서는 분자적 변화를 탐지하는데 어려움이 있었다. 최근 MALDI-TOF, MS/MS와 같은 mass spectrometry의 기술 발달로 이러한 점은 더 이상 타액을 진단액으로 사용하는데 문제가 되지 않는다. 타액은

타액선의 선포세포에서 만들어져 구강으로 배출되는 ‘국소적인 체액’이 아니라 선포세포 주위의 모세혈관과 치은열구액에서 유래된 전신을 순환하는 성분이 포함된 ‘전신적인 체액’이다. 타액은 구강 질환은 물론, 자가면역 질환, 낭포성 섬유증, 감염성 질환, 심혈관계 질환, 악성 종양 등 전신질환에도 변화가 일어나는 혈액을 대체할 수 있는 진단액이다. 치과 의사는 타액을 가장 자주 접할 수 있는 의료인으로 진단액으로서 타액이 구강 질환뿐만 아니라 전신 질환의 영역까지 확장시킬 수 있는 유용한 도구가 될 것이다.

**주요어 :** 타액, 진단액, 구강질환, 전신질환  
**학 번 :** 2010-22433

# 목 차

<b>제 1 장 서론</b> .....	<b>1</b>
제 1 절 혈액 이외의 진단액으로서 타액.....	1
제 2 절 연구의 내용.....	2
<b>제 2 장 본론</b> .....	<b>3</b>
제 1 절 타액의 생리학.....	3
1.1 타액의 생성과 분비 및 조절.....	3
1.2 타액의 기능.....	4
1.3 타액의 성분.....	6
1.3.1 무기물 성분.....	6
1.3.2 유기물 성분.....	7
1.3.3 기타 성분.....	7
제 2 절 타액의 채집.....	8
2.1 전타액 채집.....	8
2.2 타액선 타액 채집.....	9
2.2.1 이하선 타액 채집.....	9
2.2.2 이하선, 설하선 타액 채집.....	10
2.2.3 소타액선 타액 채집.....	10
2.3 자극성 전타액 채집.....	11
2.4 채집된 타액의 보관.....	12
제 3 절 타액의 분석.....	13
3.1 타액 내 단백질 분석.....	13
2.2.1 Bottom-up proteomics.....	14
2.2.3 Top-down proteomics.....	14
3.2 타액 내 유전체 분석.....	15
제 4 절 타액을 이용한 진단.....	16
4.1 구강 질환.....	16
4.1.1 치아 우식.....	16
4.1.2 치주 질환.....	17
4.1.3 구강 칸디다증.....	19
4.1.4 구강 건조증.....	19
4.1.5 구내염.....	21
4.2 전신 질환.....	21
4.2.1 자가면역 질환.....	21
4.2.2 당뇨병.....	23
4.2.3 감염성 질환.....	24
4.2.4 심혈관계 질환.....	27
4.2.5 악성 종양.....	27
4.2.6 기타 질환.....	29
<b>제 3 장 결론</b> .....	<b>31</b>
제 1 절 진단액으로서 타액의 장점.....	31

제 2 절 타액의 진단학적 발전 .....	32
참고문헌.....	34
Abstract.....	54

# 제 1 장 서 론

## 제 1 절 혈액 이외의 진단액으로서 타액

환자의 체내 변화나 반응 또는 질환을 판단하는데 사용하는 진단액(diagnostic fluid)으로 가장 일반적으로 사용되는 체액은 혈액이다. 임상적인 분석을 위한 체액으로서 혈액이 선택되는 것은 혈액이 신체의 항상성을 유지하는데 필수적이라는 데에서 이유를 찾을 수 있는데, 특히 혈액은 산소, 대사물, 호르몬, 단백질 등을 수송하여 신체의 모든 기관을 순환하기 때문이다. 그렇기 때문에 혈액은 전신적인 상태를 혈액내의 여러 분자 구성물(molecular component)를 특정 질환, 노화 등을 나타내는 생체지표(biomarker)로써 반영할 수 있는 것이다.

혈액은 전신을 순환하기 때문에 다른 기관이나 조직의 종양세포에서 유래된 탈락세포(exfoliated cell)가 순환종양세포(circulating tumor cell, CTC)로 혈액 내에서 발견되어 암 진단에 사용될 수 있다.<sup>1</sup> 또한 세포가 아니라 혈액 내를 순환하는 free DNA도 발암과정의 생체지표가 될 수 있다.<sup>2</sup>

혈액 이외에도 진단액으로 사용하는 체액은 양수(amniotic fluid), 뇌척수액(cerebrospinal fluid), 눈물, 소변, 타액 등이 있다. 이러한 체액은 특정기관에 물리적으로 가깝게 접촉하기 때문에 혈액에 비하여 포함된 단백질체(proteome)의 다양성은 적지만 핵산, 분비 당단백질, 탈락세포 등이 더 직접적으로 특정기관에서 유래된다. 그렇기 때문에 전신을 순환하는 혈액에 비하여 제한된 수의 조직에서만 유래되므로 보다 특정한 생체지표를 가지는 경향이 있다. 예를 들어, 양수의 acetylcholinesterase를 생체지표로 이용하여 초기 태아의 neural-tube defect를 진단하거나<sup>3</sup>, 뇌척수액의 tau 단백질을 통해



알츠하이머병 (Alzheimer's disease)을 진단할 수 있다.<sup>4</sup>

하지만 타액은 진단액으로서는 다른 체액에 비하여 아직 임상적인 적용이 적고 연구도 덜 진행된 상태이다. 타액은 다른 체액에 비하여 덜 침습적이고 환자에게 불편감, 불안감을 주지 않으면서 채집이 가능하면서도 보관과 운송이 간편하다는 점이 진단액으로서 혈액이나 다른 체액에 비해 가지는 장점이다.<sup>5</sup> Lee, J. M., Garon, E., Wong, D. T. (2009)에 의하면 실제 임상 진단으로 적용하기 위해서는 3가지 ‘걸림돌(roadblock)’이 있는데 1) 질환과 분명한 상관관계가 있는 단백질 또는 유전자적 지표가 있을 것; 2) 환자에게 최소한의 불편감을 주면서 쉽고 비용이 적게 드는 채집 방법을 사용할 것; 그리고 3) 진단이 정확하고, 어렵지 않아야 한다는 것이다.<sup>6</sup> 특히, 타액은 2번째 걸림돌을 혈액이나 소변, 기타 체액에 비하여 우수하게 만족시키므로 매력적인 진단액이 될 수 있다.

## 제 2 절 연구의 내용

본 연구는 정상 타액이 발생하는 타액의 생리학과 진단액으로 사용하기 위한 타액의 채집 방법, 채집한 타액을 분석하는 방법, 그리고 타액으로 진단할 수 있는 질환들에 대해 과거의 연구부터 최근의 연구까지 다루어 review한 것이다.

## 제 2 장 본 론

### 제 1 절 타액의 생리학

#### 1.1 타액의 생성과 분비 및 조절

일반적으로 환자의 구강에서 직접 또는 환자가 흘려 보내 (drool) 채집할 수 있는 타액을 ‘전타액(whole saliva)’ 또는 ‘구강액(oral fluid)’라 한다. 전타액은 대타액선인 이하선, 설하선, 악하선과 수많은 소타액선에서 분비된 타액이 구강 내에서 섞여 구성되는데 그 뿐만 아니라 치은열구액(gingival crevicular fluid), 탈락 구강상피세포, 구강내 미생물, 음식물 잔사, 비인두에서 유래된 객담 등도 포함되어 있다. 타액의 구성성분에 대해서는 뒤의 1.3절에서 보다 자세히 다루도록 하겠다.

타액선은 크게 선포(acinus)와 도관(duct)로 이루어져 있는데 분비종말인 선포에서부터 원타액(primary salivary)의 생성이 시작된다. 선포에서의 물과 이온의 세포막 이동은 여러가지 학설이 있는데 ‘Cl<sup>-</sup> dependent secretion model’에서는 Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>/2Cl<sup>-</sup> cotransporter와 Cl<sup>-</sup>/HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> exchanger를 통하여 선포내 내강의 Cl<sup>-</sup>의 농도를 높이게 되는 것으로 시작된다.<sup>7</sup> Cl<sup>-</sup>의 높아진 농도로 내강의 전기화학적 평형이 양이온이 Na<sup>+</sup>의 유입으로 일어나게 되고 내강 내는 삼투압이 높아져 물이 유입되게 되고 원타액이 생성되게 된다. 이때 유입되는 물은 타액선 주위의 모세혈관에서 유래된 것으로 aquaporin을 통한 수송과 diffusion을 통하여 이동하게 된다. 뿐만 아니라 capillary wall에는 5-10nm 크기의 pore가 존재하여 물 뿐 아니라 혈액 내의 다른 물질, 특히 크기가 작은 neutral molecule이 passive diffusion으로 이동할 수 있다.<sup>8</sup> 이러한 타액선 주위의 모세혈관이 carotid artery에서 기원한 혈액이기 때문에 전신을 순환하는 물질을 포함하며 결국 타액이 다양한 전신

질환을 진단할 수 있는 진단액으로서 유용성을 설명해준다.<sup>9</sup>

선포에서 형성된 원타액은 도관계로 이동하게 되어 조성을 변화를 겪게 된다. 도관세포에서는  $\text{Na}^+$ 와  $\text{Cl}^-$ 의 재흡수와  $\text{K}^+$ 의 분비가 주로 일어나게 되며 도관은 물에 불투과성을 가지고 있어 물의 재흡수는 적게 일어난다.  $\text{Na}^+$ 와  $\text{Cl}^-$ 의 재흡수에는  $\text{Na}^+$  channel,  $\text{Cl}^-$  channel,  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  exchanger, 그리고  $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$  exchanger가 관여하게 된다. 또한  $\text{Na}^+$ 의 재흡수에는  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  ATPase도 관여하게 되는데 이는  $\text{K}^+$ 의 분비에도 관여하게 된다. 도관계를 거치면서 원타액은  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Cl}^-$ 의 재흡수,  $\text{K}^+$ 의 분비가 물의 재흡수 없이 일어나 저장액(hypotonic)으로 바뀌어 분비되게 된다.<sup>10</sup>

타액의 분비는 자율신경계에 의해 조절될 수 있는데 선포세포의 표면의 M3 무스카린성 수용체에 부교감신경 말단에서 분비된 acetylcholine이 결합하면 guanine nucleotide-binding regulatory protein(G-protein)의 phospholipase C / inositol trisphosphate( $\text{IP}_3$ ) signal cascade를 통하여 세포내  $\text{Ca}^{2+}$  농도를 높이게 되며 이는 결국 선포세포의  $\text{Cl}^-$  channel을 opening시켜 선포 내강의  $\text{Cl}^-$  유입을 증가시키고 결국 타액의 분비를 촉진시킨다. 교감신경의 경우 타액의 분비를 촉진시키지도 않지만 억제하지도 않는다. 부교감신경, 교감신경은 모두 myoepithelial cell의 수축과 선포세포에서의 exocytosis를 통한 타액 성분 조절은 공통적으로 나타나게 한다.<sup>11,12</sup>

도관세포에는 mineralocorticoid receptor가 존재하여 타액의  $\text{K}^+$ 농도는 혈장보다 높게 하고  $\text{Na}^+$ 의 농도는 타액에서 더 낮게 조절을 해준다.<sup>13</sup>

## 1.2 타액의 기능

타액의 기능은 타액이 부족하거나 없는 구강건조증 환자에게서 나타나는 증상을 통해 명백히 알 수 있다. 타액이

부족한 만성 구강건조증 환자에게서는 광범위치아우식(rampant caries) 뿐 아니라 구강점막이 감염에 취약해지며 또한 마모, 교모, 부식 등으로 인해 치아가 닳게 된다.<sup>14,15</sup>

타액의 기능을 크게 분류하면 1) 치아와 점막을 물리, 화학적으로 보호하는 기능; 2) 음식섭취, 발음 등 기타 기능으로 나눌 수 있으며 타액의 기능이 작용하는 대상으로 나누어 분류하면 1) 치아에 대한 기능; 2) 미생물에 대한 기능; 3) 음식물에 대한 기능으로 나눌 수 있다.

타액은 연속적으로 흐르는 액체이기 때문에 치아나 구내조직으로부터 세균 또는 음식물 잔사를 물리적으로 씻겨낼 수 있고 타액에 존재하는 완충이온(buffering ion)으로 구내의 산염기를 중화시킬 수 있다. 이들은 치아의 우식이나 부식, 탈회를 막아주는 보호 역할이다. 또한 타액은 치아 표면을 감싸는 pellicle을 형성하여 치아와 치아간, 치아와 음식간의 마찰을 감소시켜 교모, 마모를 막아줄 뿐만 아니라 산이 직접 치아에 닿지 않도록 해줘 부식과 탈회도 막아준다.<sup>16</sup> 타액에는  $Ca^{2+}$ 과 phosphate가 포함되어 있는데 이는 치아를 구성하는 hydroxyapatite를 형성할 수 있어 초기 탈회된 법랑질을 다시 재광화(reminerlization)시킬 수 있도록 탈회부위에 국소적으로  $Ca^{2+}$ 과 phosphate 농도를 높여주는 기능도 있다.<sup>17</sup>

타액의 항미생물(antimicrobial) 기능은 타액에 존재하는 secretory immunoglobulin A(sIgA)가 대표적인데, 박테리아나 바이러스에 결합하여 응집시키거나 항원이 세포에 결합하는 것을 방해하는 것으로 항미생물 효과를 나타내게 된다. sIgA와 같은 방법으로 항미생물 효과를 보이는 타액 내 구성성분으로는 low molecular-weight mucin MUC7과 salivary agglutinin이 있다. 살균작용(bacteriocidal action)을 보이는 타액 내 구성성분도 있는데 lysozyme, lactoperoxidase, lactoferrin, histatin, defensin, cathelicidin 등이 그것이다.<sup>18</sup> 실제로 Tao, Renchuan,

et al의 연구(2005)에서는 치아우식이 없는 어린이들에게서 타액 내 defensin인 HNP1-3의 더 높게 발현된다고 보고하였다.<sup>19</sup>

타액은 구강 내로 들어온 음식물의 소화기능에도 관여하는데 우선 음식물을 적셔 덩어리(food bolus)로 만들어 연하가 쉽게 일어나도록 하며 타액에 존재하는  $\alpha$ -amylase와 lipase를 통하여 starch와 지방의 분해를 한다. 타액은 음식물의 맛을 느끼는데에도 관여하는데 taste substance가 타액에 녹아 혀의 미뢰(taste bud)의 taste receptor에 쉽게 결합할 수 있도록 해주고 타액의 성분이 taste receptor에 직접 영향을 주기도하여 미각을 느끼는데 도움을 주기도 한다.<sup>20</sup> 또한 타액에 포함된 Zinc와 Zinc containing protein은 정상적인 미각을 느끼는데 중요한 역할을 한다.<sup>21</sup>

끝으로 타액은 말을 하는데 에도 도움을 주는데 실제로 타액의 분비가 줄어들게 되면 일반적으로 나타나는 증상에도 말하기 어려워지는 발성장애(dysphonia)가 포함된다.<sup>22</sup>

### 1.3 타액의 성분

건강한 사람에게서 전타액은 하루에 1-1.5L가 분비되는 투명한 약산성의 점액성 외분비액이다. 전타액은 비자극 분비의 경우 이하선 타액 20%, 악하선 타액 65%, 설하선 타액 7-8%, 10% 미만의 소타액선 타액으로 구성되며 자극 분비의 경우 이하선 타액이 50%까지 증가하게 된다.<sup>23</sup> 타액의 성분은 크게 3가지로 나눌 수 있는데 1) 무기물 성분, 2) 유기물 성분, 그리고 3) 기타 성분이다.

#### 1.3.1 무기물 성분

타액에서 99%를 차지하여 가장 많은 비율을 차지하는 성분은 물이다. 물 이외의 무기물 성분으로는 타액 생성에서부터

세포막 수송으로 관여되는  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{H}^+$ ,  $\text{HCO}_3^-$ 와 범랑질의 재광화에 관여하는  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ 뿐만 아니라  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{F}^-$ ,  $\text{I}^-$  등이 존재하며 이러한 이온들은 혈장에서 유래된 것으로 유래된 혈액의 조성에 따라 타액의 구성도 다르다.

### 1.3.2 유기물 성분

타액은 다양한 유기물 성분이 존재하는데  $\alpha$ -amylase, mucin, agglutinin, glycoprotein, lysozyme, peroxidase, lactoferrin, sIgA, histatin, defensin이 구강 내에서 타액의 소화, 보호 등의 기능을 수행한다. 뿐만 아니라 urea, ammonia, uric acid, glucose, cholesterol, fatty acid, glycolipid, amino acid, 호르몬 등이 존재한다.<sup>24</sup> 타액에서 발견되는 호르몬에는 cortisol, testosterone, dehydroepiandrosterone(DHEA), progesterone, aldosterone같은 steroid hormone과 thyroxin, triiodothyronine 등이 있다.<sup>25</sup> 또한 타액 내에는 growth factor을 가지고 있는데 epidermal growth factor(EGF), basic fibroblast growth factor(bFGF), insulin, insulin-like growth factor 등이 존재하지만 이들의 정확한 생리적 역할이 어떤 것인지는 명확하지 않다.<sup>26</sup>

### 1.3.3 기타 성분

전타액에는 타액선에서 분비되지 않은 비타액선 기원 성분도 가지고 있다. 대표적으로 치은열구액이 있으며 이는 serum transudate 또는 치아표면의 bacterial biofilm과 periodontal tissue 사이의 반응으로 나오는 inflammatory exudate이다.<sup>27</sup> 그렇기 때문에 치은열구액은 혈장의 상태를 알려주고 inflammation의 지표가 될 수 있다.

비타액선 기원의 다른 성분으로는 구강 및 인두의 점막에서 기원된 탈락된 점막세포, 박테리아, 진균, 바이러스, 상기도

분비물, gastrointestinal reflux 등도 포함된다.<sup>28</sup> 이러한 점은 타액이 구강뿐만 아니라 인두, 위장까지의 상태를 비추어 볼 수 진단액일 수 있는 근거가 된다.

전타액에는 혈액기원 성분인 혈장 단백질, 적혈구, 백혈구 등도 있으며 이는 구강내 염증 또는 점막 병소가 있을 때 발견된다.<sup>29</sup> 그 외에 전타액에는 음식물 잔사도 포함되어 있다.

## 제 2 절 타액의 채집

타액을 진단액으로 사용하기 위해서 타액의 채집의 정확성과 표준화는 매우 중요하다. 특히, 사람의 전타액의 경우 매우 쉽게 채집이 가능하지만 환자가 스스로 타액을 채집하는 경우, 환자의 협조도가 완벽하지 않기 때문에 신뢰도가 떨어지기도 한다.<sup>30</sup>

타액의 flow rate를 측정하기 위해서는 너무 짧게 채집하거나 너무 길게 채집하면 정확하지 않은 결과를 얻게 된다. 보통 좌측의 이하선이 우측의 이하선에 비하여 타액을 더 생성해내는데 채집시간이 약 10분이 되면 좌우의 차이가 사라지게 되며<sup>31</sup>, 너무 장시간 타액 채집을 하게 되면 flow rate가 줄게 된다. 타액의 채집방법은 크게 1) 전타액 채집, 2) 타액선 타액 채집으로 나눌 수 있다.

### 2.1 전타액 채집

전타액 채집은 매우 쉽고 비침습적 채집이 가능한 것이 장점으로 이는 환자에게 공포감이나 스트레스를 주지 않는다. 비자극성 타액을 채집하기 앞서 환자는 채집 1-2시간 전부터 흡연, 음식물 섭취를 하지 않아야 하며 채집 시에는 눈을 뜬 상태에서 머리를 약

간 앞으로 숙인다.<sup>32</sup> 전타액을 채집하는 방법은 4가지가 있다.

1. Draining method (passive drooling): test tube나 plastic vial에 타액을 흘려 보내는 방법
2. Spitting method: 타액을 흘려 보내는 것이 아니라 60초마다 test tube나 plastic vial에 타액을 뱉는 방법으로 타액을 뱉는 행위 자체가 salivary flow에 영향을 주는 자극이 될 수 있다.
3. Suction method: 구강저에 흡인기를 설치하여 타액을 연속적으로 test tube에 채집하는 방법
4. Absorbent method (swab method): swab, cotton roll, gauze sponge 등을 대타액선의 개구부에 위치시킨 후 채집이 끝나면 다시 꺼내어 무게를 재거나 타액을 원심분리 등을 이용하여 빼내는 방법

Suction method와 absorbent method는 다른 방법에 비하여 신뢰도가 낮아 전타액 채집에는 적합하지 않지만 draining method와 spitting method는 반복 채집해도 유사한 결과를 보여 reliable한 채집방법이다.<sup>33</sup>

## 2.2 타액선 타액 채집

타액선 타액은 다시 크게 1) 이하선 타액 채집, 2) 악하선, 설하선 타액 채집, 3) 소타액선 타액 채집으로 분류된다.

### 2.2.1 이하선 타액 채집

이하선 타액은 타액선 타액 중 가장 채집이 쉬운데 상대적으로 다른 타액선의 개구부에 비해 이하선의 배출관인 Stensen's duct



가 접근하기 쉬운 개구부를 가졌기 때문이다. 이하선 타액을 채집하는 방법은 2가지가 있다.

1. Cannulation: 이하선은 상악 제 1 대구치, 제 2 대구치 부위의 협측 점막에 개구부가 위치하는데 개구부의 orifice에 직접 삽관하여 타액을 채집하는 방법
2. Lashley cup, modified Carlson-Crittenden device: 개구부를 metal cup 또는 plastic cup의 기구를 이용하여 덮고 연결된 tube를 이용하여 타액을 채집하는 방법으로 orifice에 직접 삽관하는 방법에 비하여 훨씬 더 간편하고 쉽다.

### 2.2.2 악하선, 설하선 타액 채집

악하선과 설하선의 타액은 이하선 타액에 비하여 접근과 채집이 어렵다. 악하선, 설하선 타액 채집의 방법은 3가지가 있다.

1. Cannulation: 이하선과 같은 방법으로 Wharton's duct에 직접 tube를 삽관하여 타액을 채집하는 방법
2. Suction method: 이하선 및 다른 소타액선의 분비를 cotton roll 등으로 격리시킨 후 구강저에 모이는 악하선, 설하선 타액을 pipette으로 채집하는 방법
3. Segregator: 1954년 Schneyer에 의해 소개된 장치로 이 장치는 하악에 장착하는 custom-made 장치로 원리는 suction method와 비슷하다. 장치의 chamber에 모이는 악하선, 설하선 타액을 장치에 연결된 tube로 채집한다.<sup>34, 35</sup>

### 2.2.3 소타액선 타액 채집

소타액선은 labial gland, buccal gland, palatine gland로 이들이 분비하는 타액을 채집하는 방법은 악하선, 설하선 타액 채집방법과

유사하다.

1. Pipetting: 다른 타액선을 gauze, cotton roll 등으로 격리시킨 후 pipette으로 채집하는 방법
2. Filtration paper: 소타액선 부위에 filtration paper를 30초간 올려놓은 뒤 무게를 다시 재어 타액의 양을 측정할 수 있다.<sup>36</sup>
3. Individual device: 악하선, 설하선 타액을 채집할 때 사용하는 segregator와 유사한 장치로 상악과 구개를 덮는 custom-made 장치로 원리는 segregator와 동일하다.

타액선 타액은 타액선 마다 타액의 성분이 다르고 채집이 어려워 타액을 진단액으로 사용할 때 자주 사용되지 않는다. 반면 전타액은 채집이 쉽고 구강내 환경을 더 잘 반영할 수 있어서 자주 사용된다.

### 2.3 자극성 전타액 채집

자극성 전타액(stimulated whole saliva)는 저작운동 또는 citric acid를 이용하여 분비를 유도하고 채집하게 된다. 그런데 citric acid의 경우 채집 타액의 pH를 산성으로 낮추게 되어 주로 저작운동을 시켜 자극성 전타액을 얻게 된다.

저작운동은 cotton roll을 씹게 할 수 있으나 일부 연구에서는 cotton wool이 steroid hormone, 특히 성호르몬을 immunoassay를 시행할 때 artifact로 작용되는 것을 보고하여 cotton이 없는 재료를 씹게 하기도 한다.<sup>37</sup> Polystyrene, polyethylene로 이루어진 vial과 tube는 타액 내의 progesterone의 87%를 제거한다는 연구 결과도 있어 씹을 재료에 이러한 물질이 없어야 보다 정확한 자극 전타액 채집이 가능하다.<sup>38</sup> 이러한 타액 내 성분에 영향을 주지 않

으면서 효과적으로 저작운동을 일으키고 경제적인 재료로 paraffin wax을 사용한다.

## 2.4 채집된 타액의 보관

타액에는 앞서 기술한 바와 같이 여러 단백질뿐만 아니라 효소와 항체, 박테리아도 포함되어 있다. 그러므로 효소 활성과 박테리아 활성이 왕성한 상온에서 지속적으로 보관하게 되면 salivary protein의 분해와 박테리아 증식을 막을 수 없어 진단액 분석 시 신뢰도가 떨어지게 된다. 실제로 상온에서 타액을 보관하게 되면 타액 내 bacterial protease에 의해 sIgA가 분해되기 때문에 채집된 타액과 같은 부피의 80% diluted glycerol을 섞어 액체 질소에 급속 냉동(snap-freezing)하여 보관할 것을 추천하고 있다.<sup>39</sup> 해동을 하는 경우, 단백질들의 구조와 활성이 영향을 받고 mucin-protein complex의 한랭침전(cryoprecipitation)이 일어나 타액 내 단백질 생체지표의 비가역적 손실이 야기되므로 급속 냉동한 타액은 뜨거운 물에 짧은 시간 동안 넣어 해동하는 것이 좋다.

급속 냉동이외에 타액을 보관하는 방법으로 타액 내의 효소활성을 억제하기 위하여 효소 억제제를 10:1로 첨가하기도 하는데 이 효소 억제제는 pefabloc, leupeptin, aprotinin을 100:2:1 무게비로 혼합하여 만든 enzyme inhibitor cocktail을 사용한다.<sup>39</sup>

타액 채집 후 타액 내 박테리아를 보다 직접적으로 제거하는 방법도 있는데 5분간 10,000g 또는 20분간 3,000g로 원심분리를 하여 침전 시키거나 여과(filtration)을 사용하는 방법이다. 그러나 이러한 방법은 원심분리 시 mucin aggregate가 파괴되어 타액의 viscosity와 viscoelastic property를 비가역적으로 변화시키고 자극성 전타액 채집에서도 기술했듯 cotton wool이 타액 내 단백질 및 호르몬을 흡수하여 artifact로 작용할 수 있으므로 주의해야 한

다.

채집된 타액에 sodium azide ( $\text{NaN}_3$ )를 첨가하여 박테리아의 성장을 막는 보관 방법도 있다. Sodium azide는 채집된 타액을 immunoradioassay를 진행하거나 특정 타액 생체지표를 분리, 추출할 때에도 영향을 주지 않는 것으로 알려져 있다.<sup>40</sup> 최근에는 immunoradioassay가 아닌 non-isotopic enzyme immunoassay가 일반적으로 시행되는데 heme-containing enzyme의 억제제로 작용하는 sodium azide가 enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)의 horse-radish peroxidase (HRP)를 불활성화시키게 된다.<sup>41</sup> 게다가 sodium azide는 protease나 glycosidase에 의한 분해를 막지는 못한다.

또다른 방법으로 10% trifluoroacetic acid (TFA)를 이용하는 방법이 있다. 10% TFA는 pH 2.9의 산으로 salivary enzyme를 denature시켜 타액 보관 시 안정성을 높이게 된다. TFA를 이용할 때 pH를 7로 중화시키기 위해  $\text{CaCO}_3$ 를 추가적으로 사용하게 된다.<sup>42</sup>

타액 내 단백질뿐 아니라 DNA, RNA와 같은 핵산을 분석하기 위해 보관할 때도 유사한 보관 방법을 이용한다. 혈장의 RNA와 유사하게 타액 내의 RNA 역시 macromolecule과 complex를 이루어 안정성을 높이게 되어 degradation에 저항을 보인다.<sup>43,44</sup>

## 제 3 절 채집된 타액의 분석

### 3.1 타액 내 단백질 분석

체액의 단백질체 (proteome)는 임상적인 질병을 진단하는데 매우 중요한 생체지표가 되며 타액에도 이러한 단백질 분석을 이용할 수 있다. 단백질 분석 (proteomics)의 과거의 기본적인 개념은 단백질

의 발현 양상의 변화를 관찰하는데 집중되었다가 다양한 연구기법의 발달로 단백질의 정확한 정량화(quantification)까지 가능해졌다. 사용되는 방법으로는 two-dimensional polyacrylamide gel electrophoresis(2D-PAGE)와 비교적 최근에 발전된 기술로 matrix-assisted laser desorption ionization/time of flight(MALDI-TOF) mass spectrometry(MS), tandem mass spectrometry(MS/MS) 등이 있다.<sup>45</sup> 단백질 분석은 다시 크게 1) Bottom-up proteomics, 2) Top-down proteomics로 나눌 수 있다.

### 3.1.1 Bottom-up proteomics

Complex protein mixture를 분석할 때 가장 일반적으로 사용되는 방법으로 우선 2D-PAGE를 이용하여 단백질의 발현량, posttranslational modification(PTM), isoform 등을 비교하여 파악할 수 있다.<sup>46</sup> 그 후, trypsin과 같은 proteolytic enzyme을 이용하여 peptide로 분해 후 MS를 시행하여 기존의 연구된 단백질의 database와 비교하여 identify할 수 있다. 그 후, 단백질의 분별(fractionation)은 ion exchange chromatography, gel filtration chromatography, free flow electrophoresis(FFE), gel IEF, liquid-phase IEF, capillary isoelectric focusing(CIEF) 등을 통하여 분별의 해상력(resolving power)를 증진시킬 수 있다.<sup>47</sup>

### 3.1.2 Top-down proteomics

이 단백질 분석방법은 bottom-up proteomics와는 달리 단백질을 효소로 분해하지 않고 intact protein을 바로 mass spectrometry하여 분석하는 방법이다. 이 방법의 장점은 단백질의 형태(proteoform)를 손상시키지 않고 파악할 수 있다는 것인데 tandem mass spectrometry를 위한 intact protein

fractionation이 가장 큰 문제점이 된다.

PAGE를 이용하여 분류할 경우 sample loss가 흔하게 발생되고 크로마토그래피를 이용할 경우 intact protein의 크기가 500 amino acid를 초과하면 해상력이 매우 떨어지게 된다.<sup>48</sup>

### 3.2 타액 내 유전체 분석

타액 내의 유전체, 즉 RNA는 앞서 기술했다시피 macromolecule과 complex를 이루어 좋은 stability를 보인다. 하지만 수시간 내의 degeneration을 막기 위해 모든 과정을 ice에서 진행하는 것이 좋다. 실온에서 진행하는 경우 stabilizing agent를 추가하여 사용한다.

타액 내의 RNA를 추출하는 것은 시중에 여러 가지 kit가 나와 있는데 silica membrane을 이용하는 경우 타액의 점성과 nonhomogeneity 때문에 filter가 막힐 수 있어 magnetic beads-based method가 적합하다.

mRNA의 quantification을 하기 위해 일반적으로 사용하는 것은 quantitative real time PCR(qPCR)이다. 기존의 qPCR은 적은 수의 target만 분석이 가능했으나 최근 multiplex RT-PCR-based preamplification이 개발되어 한번의 reaction으로 50개 이상의 target의 정확한 quantification이 가능해졌다.

한번의 다수의 mRNA의 발현양상을 확인하여 정상과 질병상태를 알 수 있는 microarray 역시 타액에 응용이 가능하다. Affymetrix all exon array(AEA)을 통하여 타액 전사체(transcriptome)의 진단이 더욱 용이해졌다. Hu et al.(2008)은 salivary exon core transcriptome(SECT)를 saliva sample들의 85% 이상에서 발견되는 851개의 유전자로 대표되는 1,370개의 probe로 구성하고 전신 질환을 진단하는 보다 해상력이 높은 생체지표로 활용될 것이 기대되고 있다.<sup>47</sup>

## 제 4 절 타액을 이용한 진단

본 절에서는 다양한 질병들이 어떻게 타액을 이용하여 진단이 되는지 알아보려고 한다. 질병의 분류는 크게 1) 구강 질환과 2) 전신 질환으로 나누도록 하겠다.

### 4.1 구강 질환

#### 4.1.1 치아 우식

치아 우식(dental caries)은 환자의 구강에서 쉽게 육안으로 확인이 가능하고 탐침(explorer)으로 치질의 탈회를 바로 알 수 있기 때문에 타액의 성분을 분석하여 진단할 필요가 없다. 하지만 치아 우식이 감염성 질환이고 박테리아가 숙주의 oligosaccharide에 부착하는 것에서부터 발생하는 질환임을 생각해야 한다.<sup>47</sup> 또한 이러한 oligosaccharide가 타액 기원의 치아막(pellicle)을 구성하는 성분이라는 점을 볼 때 치아 우식의 감수성(susceptibility)을 타액의 성분으로 알아볼 수 있다.

타액 내의 major gel forming mucin인 MUC5B는 pellicle을 구성하는 성분이며 특히 lubricity에 관여한다.<sup>49</sup> 타액의 또다른 mucin인 MUC7은 세균, 진균, 바이러스 등과 친화력을 가져 응집(agglutination)을 일으킨다.<sup>50</sup> 이러한 mucin들은 bactericidal, antifungal의 특징 역시 가지고 있다.<sup>51,52</sup>

MUC7과 cariogenic pathogen인 *Streptococcus mutans*의 수는 음의 상관관계를 보였을 뿐 아니라 이전의 dental history인 DFT(우식 상태 또는 수복물 충전 상태의 영구치아의 수)도 같은 경향을 보였다.<sup>53</sup> 즉, MUC7이 타액에 풍부한 환자는 치아 우식의 감수성이 낮다는 것이다.

또한, 치아 우식이 있는 경우, 타액 내의 *Streptococcus*

*mutans*와 *lactobacilli*의 개체수가 증가된다.<sup>54</sup>

#### 4.1.2 치주 질환

치주 질환 역시 치아 우식처럼 치과의사의 육안 및 probe를 이용하여 진단할 수 있기 때문에 타액을 이용한 진단은 보편적이지 않다. 그러나 치아 우식과 달리 치주 질환은 염증반응, 결합조직(connective tissue) 및 골의 파괴가 동반되기 때문에 타액의 성분에 변화가 생긴다. 치주염이 발생할 경우 GCF가 증가하기 때문에 혈장성분이 타액 내에서 증가하게 된다. 이러한 점 때문에 방사선 사진이나 육안을 통한 사진에서 알아내기 어려운 초기 치주 질환에 대해서 타액의 성분 변화를 통해 미리 진단이 가능하다.

염증반응의 생체지표로 대표적으로 전타액 내의 interleukin들이 있다. 특히 4mm 이상의 치주낭 형성된 치주 질환의 경우 IL-1 $\beta$ 가 증가된다.<sup>55</sup> IL-6의 경우, 전타액에서 농도가 골소실의 정도와 비례하다는 결과도 보고되었다.<sup>56</sup> 타액 내의 TNF- $\alpha$  역시 치주 질환이 있는 환자에게서 더 높은 수치를 보였다.<sup>56</sup> C-reactive protein(CRP)는 건강한 사람보다 치주 질환을 가진 환자에게서 18.2배 더 높게 발현되었다.<sup>57</sup> 호중구(neutrophil)의 유입의 지표가 되는  $\beta$ -glucuronidase 역시 염증반응의 생체지표로 생각할 수 있는데 5mm 이상의 치주낭 형성 시  $\beta$ -glucuronidase의 활성도가 유의미하게 증가하는 것으로 알려져 있다.<sup>58</sup>

염증반응과 함께 결합조직의 파괴로 인해 타액의 구성 성분의 변화가 나타날 수 있다. 가장 대표적인 것은 결합조직의 파괴를 일으키는 matrix metalloproteinase(MMP)인데, 이 효소는 건강한 치주조직에서는 적은 양이 존재하지만 염증반응이 있으면 크게 증가한다. 특히, 치주 질환에서 MMP-8은 중요한데 periodontium을 구성하는 type I, type III collagen을 파괴하는 효소이기 때문이다. 치주 질환 환자에게서 MMP-8의 타액 내 양이 증가할 뿐 아니라, MMP-8의 양이 늘어나면 치주 질환의 임상적 증상도 증가하게 된



다.<sup>55</sup> MMP의 활성을 조절하는 tissue inhibitor of metalloproteinase(TIMP) 중 특히 TIMP-1은 periodontium의 fibroblast, keratocyte, endothelial cell 등에서 분비되어 치주조직에서 가장 일반적인 TIMP이다. 이러한 TIMP-1의 농도는 low-dose doxycycline therapy를 통한 치주 질환 치료를 하게 되면 타액 내의 농도가 높아진다.<sup>59</sup> 세포질 효소(cytoplasmic enzyme)로서 세포 파괴 시 생체지표가 되는 aminotransferase는 aspartate aminotransferase(AST)와 alanine aminotransferase(ALT)가 있다. 치주 질환 역시 이러한 aminotransferase의 변화가 관찰되는데 치주 질환 환자에서 타액 내의 ALT는 유의미한 증가가 관찰되지 않으나 AST는 건강한 정상 피험자의 타액에서보다 5배가까이 증가하여 치주 질환의 생체지표로 사용될 수 있다.<sup>60</sup> ALT는 치주 질환으로 크게 증가하지는 않는 것으로 생각되지만 scaling 치료 후 치주 질환 환자의 타액에서 ALT와 AST가 모두 감소한다.<sup>61</sup> GCF와 전타액에서는 혈장 단백질 중 하나인  $\alpha 2$ -macroglobulin은 MMP를 포함한 여러 proteinase의 활성을 억제시키는 기능을 가지고 있다. 결합조직의 파괴가 진행된 치주 질환 환자에게서 타액 내의  $\alpha 2$ -macroglobulin의 발현이 줄어든다.<sup>62</sup> 타액 내에 elastase 역시 attachment loss가 발생되면 증가하게 된다.<sup>63</sup> 또한 치주 질환의 치료를 받게 되면 환자의 타액에서 elastase의 활성이 치료 전과 비교하여 1/30으로 줄어든다는 보고도 있다.<sup>64</sup>

치주 질환으로 대표되는 치은염(gingivitis)과 치주염(periodontitis)의 결정적인 차이는 치조골의 비가역적인 파괴의 유무이다. 그렇기 때문에 bone remodeling을 나타내는 생체지표 역시 타액 내의 성분으로 치주염을 파악할 수 있다. Alkaline phosphatase(ALP)는 특히 골 내에 풍부한 효소로 골의 대사 시 그 양이 더 크게 증가한다. 치주 질환을 가진 환자의 타액에서 정상군에 비하여 ALP의 활성이 5배 이상 높게 나타났다.<sup>60</sup> Bone

remodeling에 중요한 receptor activator of NF- $\kappa$ B ligand(RANKL)과 osteoprotegerin(OPG) 역시 타액 내에서 치주 질환의 상태를 나타낼 수 있을 것으로 보고 몇몇 연구가 진행되었다. RANKL은 osteoclast의 분화를 유도하며 반대로 OPG는 RANKL과 결합하여 RANKL을 분해시켜 osteoclast의 분화를 억제한다. 치료를 받지 않는 치주 질환 환자 중에서 흡연자 집단에서 더 높은 RANKL과 더 낮은 OPG의 농도를 보이는데 치료를 받아도 흡연자 집단은 비흡연자 집단보다 높은 RANKL과 낮은 OPG를 보인다.<sup>65</sup> 하지만 다른 연구에서는 치주염 환자의 타액에서 RANKL이 탐지(detect)되는 경우는 일부 소수의 환자에서만 나타나며 대부분의 RANKL은 OPG에 의해 분해된다고 보고하였다.<sup>66</sup> 이 외에 osteoblast에서 분비되는 noncollagenous protein인 osteocalcin과 osteonectin도 치주 질환 환자에서 골 소실의 정도와 반비례하여 타액 내 농도를 보인다.<sup>56</sup>

#### 4.1.3 구강 칸디다증,

구강 칸디다증(oral candidiasis)는 진균 감염(fungal infection)으로 *Candida albicans*가 병원균으로 작용하는 질병이다. 이러한 진균 감염은 항암치료, 골수 및 장기 이식으로 인한 의인성 면역저하(iatrogenic immunosuppression)이나 면역 결핍 증후군(immunodeficient syndrome)에서 구강 칸디다증이 호발된다.<sup>67</sup>

구강 칸디다증이 있는 환자에게서 대조군에 비하여 타액 내의 lactoferrin, sIgA,  $\beta$ -defensin1,  $\beta$ -defensin2의 양이 줄어들었다.<sup>68</sup> 또한 구강 칸디다증 환자의 타액 분비율과 타액 내 *Candida albicans*를 배양했을 때 얻어지는 colony-forming unit(CFU)의 수는 반비례한다.<sup>69</sup>

#### 4.1.4 구강 건조증

구강 건조증(xerostomia)는 연령이 증가할수록 유병률이 함께

증가하고 65세 인구의 약 30%는 가지고 있는 흔한 질환이다. 약물로 인한 구강 건조증이 가장 일반적인데 대부분의 성인들은 타액선 기능이상(salivary dysfunction)을 유발하는 약물을 1개이상 복용하기 때문이다.<sup>70</sup> 또한 노인인구의 1~4%의 유병률을 가지는 자가면역 질환(autoimmune disease)인 쇼그렌 증후군(Sjögren's syndrome)은 거의 모든 환자가 구강 건조증이 나타나며 두경부 암 치료를 위한 두경부의 방사선 조사를 받게 되어도 100% 가까운 환자들에게서 구강 건조증이 나타나게 된다.<sup>70,71</sup>

구강 건조증은 다른 질환에 의해서도 야기될 수 있는데 조절되지 않는 당뇨병, chronic graft-versus-host disease, 유육종증(sarcoidosis), 아밀로이드증(amyloidosis), HIV 감염, C형 간염 등의 원인으로도 발생된다.<sup>72</sup> 노인들은 이러한 질병과 함께 투약과 방사선 치료가 늘어나 타액선의 기능 이상을 야기하기 때문에 연령이 증가함에 따라 구강 건조증과 타액선 기능저하가 늘어나는지 설명해준다.<sup>73</sup>

타액선 기능 이상을 야기하는 가장 큰 이유는 바로 약물이다. 타액의 분비에 영향을 주는 약물은 보고에 따라 400~1000개 정도로 알려져 있다.<sup>73,74</sup> 이뇨제, 고혈압 제제, 항정신병 제제, 항히스타민 제제, 항우울 제제, 항콜린성 제제, 항종양 제제와 기분 전환 약제(recreational drug)인 아편제(opiate), 암페타민(amphetamine), 바르비투르 제제(barbiturate), 환각제(hallucinogen), 카나비스(cannabis)과 알코올 등이 타액 분비율 감소와 연관된 약물이다.<sup>74</sup>

항콜린성 제제의 경우 아세틸콜린의 binding을 방해하는데 이는 1절에서 서술했듯이 선포 세포에서 세포 신호체계를 전달하는 것을 막기 때문에 타액의 분비량에 변화를 주게 된다.

화학 요법(chemotherapy) 역시 타액 분비 이상을 일으킬 수 있는데 대부분 치료 도중 또는 치료 후 일시적으로 타액 분비가 줄어들게 되지만 영구적인 타액 분비 변화 역시 보고 되었다.<sup>47</sup> 갑상선암의 경우 radioactive iodine ( $I^{131}$ )을 치료에 사용하게 되는데 이는

이하선의 타액 분비에는 영향을 주지만 악하선에는 영향을 주지 않는다.<sup>47</sup>

#### 4.1.5 구내염

구내염은 구강 점막이나 입술 등의 염증상태를 나타내는 질환으로 앞서 설명한 구강 칸디다증 역시 구내염에 포함되는 질환이나 진균 감염이 특징적인 것으로 나누어 분류하였다. 본 소절에서는 궤양을 동반하는 재발성 아프타성 구내염(recurrent aphthous stomatitis)과 항암치료 후 합병증으로 나타나는 구내염을 말한다.

구내염이 존재하면 타액 내의 알부민(albumin) 농도가 증가하는데 이는 타액선의 선포세포에서 만들어진 원타액의 알부민 농도가 증가하는 것이 아니고 구내염의 점막 병소로 인해 epithelial barrier의 역할이 무너져 혈장의 알부민이 전타액 속으로 유입되는 것이다. 그러므로 타액 내의 알부민 농도의 변화는 항암치료 시 발생할 수 있는 구내염을 monitoring하는데 이용할 수 있다.<sup>75</sup>

타액 내의 IgG 역시 알부민과 비슷한 경향을 보여 주지만<sup>75</sup>, IgA는 정상 대조군과 재발성 아프타성 구내염 환자 사이에서 큰 차이를 보이지 않았다.<sup>76</sup>

구내염의 궤양이 active stage일 때 타액 내의 prostaglandin E<sub>2</sub>와 epidermal growth factor(EGF)가 줄어들고 convalescent stage에서는 다시 그 양이 회복되는 양상이다. 그러나 EGF의 회복 속도는 prostaglandin E<sub>2</sub>의 회복 속도보다 느리다.<sup>77</sup>

## 4.2 전신 질환

구강은 비침습적으로도 육안을 통한 시진이 가능하여 타액의 진단액으로서 가치가 큰 편이 아니지만 전신 질환의 경우 비침습적으로 진단액을 채집하여 질병을 진단하는 것은 큰 장점이 된다. 최근의

타액을 통한 진단 연구는 주로 전신 질환을 진단하는데 집중되어 있다.

#### 4.2.1 자가면역 질환

쇼그렌 증후군(Sjögren's syndrome)은 그 원인이 명확히 밝혀지지 않은 자가면역 외분비계 질환이다. 눈물샘과 타액선의 분비가 줄어들어 각결막염(keratoconjunctivitis), 구강 건조증이 특징적으로 나타난다.

쇼그렌 증후군은 일차성(primary) 쇼그렌 증후군과 이차성(secondary) 쇼그렌 증후군으로 나뉘는데 각결막염과 구강 건조증의 증상만 보이면 일차성 쇼그렌 증후군으로, 2개의 증상 이외에 추가적으로 결합조직에서의 자가면역 질환인 류마티스 관절염(rheumatoid arthritis), 전신 홍반성 낭창(systemic lupus erythematosus), 경피증(systemic sclerosis), 원발성담즙성간경변(primary biliary cirrhosis) 등이 동반되면 이차성 쇼그렌 증후군으로 진단된다.<sup>78</sup>

앞서 구강 질환에서도 언급되었지만 쇼그렌 증후군은 구강 건조증 증상을 보이지만 구강 건조증만으로 쇼그렌 증후군을 진단할 수는 없다. 그러나 타액을 통한 쇼그렌 증후군 진단 시 타액 분비의 감소를 가장 쉽게 알아낼 수 있는 정보이다. 타액의 분비율(flow rate)이 안정 시 타액 분비율(resting flow rate; RFR)이 0.1g/분 미만, 자극 시 타액 분비율(stimulated flow rate; SFR)이 0.5g/분 미만이면 타액 분비율이 저조한 비정상 상태로 진단한다.<sup>79</sup> 그러나 이러한 수치는 일반적으로 동의되어 사용되는 임상적인 수치는 아니기에 임상가들 사이에서 쇼그렌 증후군을 진단하는데 sensitivity와 specificity의 차이를 보이게 된다.<sup>80</sup>

타액의 분비율 이외에 성분의 차이도 쇼그렌 증후군 환자에게서 나타난다. 타액 내의 무기물 가운데  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Cl}^-$ 의 농도는 정상 대조군에 비하여 증가하게 되지만  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ 의 농도는 정상과 차이를 보이

지 않는다.<sup>81</sup> 타액 내의 lactoferrin이 쇼그렌 증후군 환자에서 정상 대조군에 비하여 증가되고<sup>82</sup> IgA는 타액 분비율이 줄어들어 따라 타액 내 농도가 증가하게 된다.<sup>83</sup> 그러나 IgG, IgM, 알부민의 농도는 정상 대조군과 차이가 없다는 보고도 있으나 IgG의 농도 증가와 현저한 알부민 농도의 증가를 보고한 경우도 있다.<sup>83,84</sup>

타액 내의 지방 성분도 차이를 보이는데 쇼그렌 증후군 환자의 경우 타액 내 당지질(glycolipid)가 정상 대조군의 농도보다 3배, 인지질(phospholipid)이 20배 더 높고 중성지방(neutral lipid)은 큰 차이가 나타나지 않았다.<sup>85</sup>

쇼그렌 증후군의 환자의 타액에서는 cystatin C, cystatin S의 농도가 증가하는데 이는 일차성 쇼그렌 증후군, 이차성 쇼그렌 증후군 환자 모두에게 해당되며 amylase의 농도는 정상과 차이가 없었으나 타액선에서 생성되는 amylase의 양은 줄어들지만 타액 분비율의 감소로 인하여 농도는 정상으로 유지된다.<sup>86</sup>

또한 쇼그렌 증후군 환자의 타액에서는 염증 매개물질(inflammatory mediator)가 증가되는 양상을 보이는데 interleukin 6의 증가와 thromboxane B<sub>2</sub>, prostaglandin E<sub>2</sub>의 농도 역시 증가되어 나타난다.<sup>87,88</sup>

쇼그렌 증후군 환자는 ribonucleoprotein antigen인 La와 Ro에 대한 자가항체가 특징적으로 나타나는데, 이러한 자가항체는 RNA polymerase의 조절에 관여하는 단백질에 영향을 준다.<sup>89</sup> 한 연구에서는 15명의 쇼그렌 증후군 환자들의 타액을 ELISA로 분석한 결과 8명의 환자에서 anti-SSA/Ro 항체가 탐지되었고 그 중 6명의 환자에서는 anti-SSB/La 항체 역시 탐지되었다.<sup>90</sup>

#### 4.2.2 낭포성 섬유증

낭포성 섬유증(cystic fibrosis)은 어린이와 젊은 성인층에서 나타나는 선천성 외분비계 질환이며 transmembrane-regulating protein인 cystic fibrosis transmembrane conductance

regulator(CFTR)을 coding하는 7번 염색체의 gene defect로 인해 발생한다.<sup>91</sup> 낭포성 섬유증은 주로 땀샘, 폐, 췌장 등에서 이상이 발생하며 점액이 과다하게 생겨 소화 효소의 전달이나 전해질의 농도 이상 등을 나타내게 된다.

낭포성 섬유증 환자의 타액 변화는 대표적으로  $Ca^{2+}$ 의 농도가 증가하는 것이다. 또한 phosphate 역시 농도가 증가하여  $Ca^{2+}$ 와 함께 hydroxyapatite를 형성하여 타액의 혼탁도(turbidity)를 높이게 된다.<sup>92</sup> 이러한 점은 낭포성 섬유증을 가진 어린이 환자에서 치석의 발생이 정상 어린이에 비하여 높게 나타나는 것을 설명해준다.<sup>93</sup>

타액 내의 지방 성분에도 변화가 생기는데 낭포성 섬유증 환자의 악하선 타액은 정상 타액보다 66% 정도 더 많은 지질이 포함되었다. 중성지방, 당지질, 인지질 모두 증가된 양상을 보이는데 특히 당지질의 경우 정상 대조군에서는 glyceroglucolipid만 존재하지만 낭포성 섬유증 환자에서는 이와 더불어 glycerosphingolipid도 존재한다.<sup>94</sup>

이외에 낭포성 섬유증 환자의 타액의 epidermal growth factor(EGF)는 unusual form을 보이며 prostaglandin  $E_2$ 와 prostaglandin  $F_2\alpha$ 의 농도가 정상 대조군의 타액 내 농도보다 4배 정도 더 높게 나타난다는 연구결과가 있다.<sup>95,96</sup>

#### 4.2.3 감염성 질환

타액으로 진단할 수 있는 감염성 질환에는 대표적으로 치아 우식과 치주 질환, 구강 칸디다증이 있으나 이들은 구강 질환 절에서 언급하였으므로 이번 절에서는 보다 전신적인 감염성 질환에 대해 다루도록 하겠다.

위궤양과 관련된 *Helicobacter pylori*은 타액으로 탐지가 가능한 박테리아이다. *H. pylori*에 감염되면 IgG의 생산이 늘어나게 되는데 타액 내의 IgG를 탐지하여 *H. pylori*의 감염을 진단할 수도 있고 *H.*

*pylori*의 박테리아 DNA가 타액 내에 존재할 수 있어 polymerase chain reaction(PCR)으로 증폭시켜 진단할 수 있다.<sup>97,98</sup>

다른 박테리아 감염성 전신질환으로는 *Shigella* 박테리아에 의한 세균성 이질(shigellosis)이 있는데 이러한 세균성 이질에 감염된 환자의 타액 내에서 anti-lipopolysaccharide, anti-Shiga-toxin 항체로 *Shigella*-specific IgA가 발견되기 때문이다.<sup>99</sup>

폐렴구균성 폐렴(pneumococcal pneumonia)도 타액 내에서 pneumococcal C polysaccharide를 sandwich ELISA로 탐지를 해서 찾아낼 수 있는데 29명의 폐렴 환자 중 16명에게서 항원을 탐지하였고 36명의 폐렴이 없는 대조군의 타액에서 35명에게 음성반응이 나타나 55%의 sensitivity와 97%의 specificity를 보였다.<sup>100</sup>

라임병(Lyme disease)은 나선균인 *Borrelia burgdorferi*의 감염으로 인해 생기는 병으로 주로 진드기에 물려서 감염이 된다. 타액에서 발견되는 Anti-tick saliva antibody(ATSA)는 라임병의 생체지표로 사용될 수 있다.<sup>101</sup>

기생충의 감염질환인 신경유구낭미충증(neurocysticercosis)은 *Taenia solium* 조충유충이 신경계 조직에서 나타나는 것으로 특히 중추신경계의 감염이 빈번히 나타난다. 타액 내에서도 *Taenia crassiceps* vesicular fluid antigen(Tcra)와 *Taenia solium* total antigen(Tso)을 ELISA로 탐지할 수 있는데 뇌척수액이나 혈액에서 보다 sensitivity가 낮다.<sup>102</sup>

박테리아, 기생충 감염 이외에도 바이러스 감염 질환도 타액을 통해 진단할 수 있다. 특히 Human immunodeficiency virus(HIV)는 타액을 이용하여 진단할 때 높은 정확도를 가진다. 125명의 혈청양성반응(seropositive) 환자의 타액을 이용하여 진단한 결과 100%의 sensitivity와 specificity를 보여 HIV-1 감염을 진단하는데 혈액을 대신할 수 있다.<sup>103</sup> HIV 감염환자에게서는 혈청과 타액에 anti-p24, anti-gp160 IgA, IgG가 존재하는데



이러한 항체의 양은 symptomatic phase에 줄어들게 되어 타액 내의 HIV에 대한 항체의 양을 HIV 감염의 진행(progression)의 예후인자(prognostic indicator)로 사용할 수 있다.<sup>104</sup> 타액을 통한 HIV 감염을 진단하는 것은 환자에게 덜 침습적이라는 것뿐만 아니라 혈액 채집 시, 채집자의 감염 위험을 줄이는 장점도 있다. 타액에서는 infectious virus가 드물어 타액을 통한 전염의 위험이 낮기 때문이다.<sup>80</sup>

간염(hepatitis)을 일으키는 바이러스도 타액을 통한 진단을 할 수 있다. Hepatitis A(HAV), hepatitis B(HBV), Hepatitis C(HCV) 모두 타액을 이용한 진단 연구가 되어 있으며 모두 높은 sensitivity와 specificity를 보고하고 있다.<sup>105,106</sup>

홍역(measles), 볼거리(mumps), 풍진(rubella)의 감염도 타액을 이용할 수 있는데 이러한 질환의 대한 특정 IgM, IgG 항체를 탐지한다. 그 중 IgM이 IgG보다 더 좋은 진단능력을 보이는데<sup>107</sup>, sensitivity와 specificity는 홍역에서 각각 97%, 100%, 볼거리에서 94%, 94%, 풍진에서 98%, 98%로 매우 높게 보고되었다.<sup>108</sup>

Herpes simplex virus-1(HSV-1)의 shedding이 타액에서 일어나 타액으로 HSV-1의 감염을 진단할 수 있다.<sup>109</sup> 특히 HSV-1의 reactivation은 벨 마비(Bell's palsy)의 발병과 관련이 있는데 정상 대조군에서 타액 내 shedding HSV-1 바이러스가 19%에서 탐지되지만 벨 마비 환자에서는 50%가 탐지된다.<sup>110</sup>

뎅기열(dengue)은 *Aedes aegypti*라는 모기에 의해 전염되는 바이러스 감염 질환이다. 뎅기열은 self-limiting febrile disease인 일차감염과 보다 심각해져 hemorrhagic fever, 뎅기 쇼크 증후군(dengue shock syndrome)으로 이어지는 이차감염으로 나뉜다.<sup>111</sup> 뎅기열의 환자의 타액에서 anti-dengue IgM, IgG를 통한 ELISA로 뎅기열을 진단 할 수 있는데 일차감염, 이차감염 모두 92%의 sensitivity와 100%의 specificity를 보였다. 게다가 이차감염에서는 타액 내의 IgG 농도가 증가하여 일차감염과 이차감염

을 구분할 수 있다.<sup>112</sup>

#### 4.2.4 심혈관계 질환

심혈관계 질환은 전세계적으로 사망률이 매우 높은 질환으로 대동맥류(aortic aneurysm)타액 내의 amylase level이 낮은 경우 사망률(mortality)이 증가한다.<sup>113</sup>

급성 심근경색(acute myocardial infarction; AMI)의 대표적인 혈액의 생체지표로 심효소(cardiac enzyme)가 있는데, Myo, creatine kinase-MB(CK-MB), cardiac TnT, TnI 등이 이 효소에 포함된다. 이 중 Myo는 혈액의 농도와 비례하여 타액 내의 농도도 오르고 non-AMI 환자에 비하여 AMI 환자에게서 더 타액 내의 농도가 높게 나타난다. 그러나 CK-MB나 TnI는 혈액에서는 AMI을 진단하는 좋은 생체지표이지만 타액에서는 나타나지 않는다. 또한 AMI는 inflammatory marker인 C-reactive protein(CRP), TNF- $\alpha$ 의 타액 내의 농도를 증가시킨다. 급성 관상동맥 증후군(acute coronary syndrome; ACS) 환자에게서 대식세포(macrophage)가 분비하는 MMP-9와 호중구(neutrophil)에 풍부한 myeloperoxidase의 타액 내 농도가 증가하게 된다.<sup>9</sup>

#### 4.2.5 악성 종양

악성 종양은 DNA의 손상을 받았는데도 세포자살(apoptosis)로 이어지지 않고 계속 분열을 하여 결국 조절되지 않는 세포주기를 가지게 된다. 그러므로 악성 종양은 특징적으로 종양 억제 단백질(tumor suppressor protein)의 이상을 보이게 되는데 p53이 대표적이다. 타액 내의 p53을 통하여 편평세포암종(squamous cell carcinoma)을 진단할 수 있다. 두경부의 편평세포암종 환자 7명 중 5명의 환자에게서 타액 내의 p53의 특이적인 변이를 발견할 수 있었다.<sup>114</sup> Mutant p53이 과발현(overexpression)되면 체액성 면역(humoral immunity)으로 p53에 대한 항체가 생기는데 이 항체는

타액에서도 탐지될 수 있다.<sup>115</sup>

다형핵 백혈구(polymorphonuclear leukocyte; PMN)의 azurophil granule에서 발견되는 defensin은 antimicrobial, cytotoxic의 특성을 가지는 peptide이다. 구강 편평세포암종 환자의 타액에서 defensin-1이 정상 대조군에 비하여 증가된 양상을 보였다.<sup>80</sup>

또한 악성 종양을 진단 받은 환자에게서 타액 내의 kallikrein의 농도가 증가하는데, 이는 구강암이 아니고 구강과는 멀리 떨어진 악성 종양을 가진 환자에게서도 타액 내의 kallikrein의 변화가 있어 악성 종양의 진단에 사용될 수 있다.<sup>116</sup>

난소암을 진단하는 생체 지표로 당단백 복합체인 cancer antigen 125(CA 125)는 타액 내에도 존재하는데, 다른 양성 병소나 건강한 대조 여성에 비하여 난소암 환자에게서 더 높은 농도로 존재하였다. 타액의 CA 125를 통한 난소암 진단은 혈액을 이용한 경우보다 sensitivity는 낮았으나 specificity는 더 높게 나타났다.<sup>117</sup>

Epidermal growth factor(EGF) 역시 악성 종양을 진단하는데 사용할 수 있는 타액 내의 성분이다. Active한 유방암 환자뿐 아니라 non-active한 유방암 환자에게서는 건강한 정상 대조군에 비하여 타액 내의 EGF가 더 높게 나타났는데, 독특하게 혈액에서는 반대의 결과를 보였다. 또한 유방암이 국소적으로 재발된 경우 가장 높은 EGF를 보였다.<sup>118</sup>

암유전자(oncogene)에서 유래된 c-erbB-2 단백질은 HER-2/neu라고도 알려져 있으며 유방암 진단의 생체 지표로 사용할 수 있다. 또한 cancer antigen 15-3(CA 15-3)도 역시 유방암의 생체 지표인데 c-erbB-2와 CA 15-3 모두 유방암 환자의 타액 내에서 농도가 증가되어 있다. CA 15-3은 건강한 대조군의 타액에서도 낮은 농도로 탐지가 되지만 c-erbB-2는 대조군의 타액에서는 탐지되는 않는다.<sup>119</sup> CA 15-3의 타액 내의 농도는 혈액에서의 농도와 비례하여 나타나기 때문에 유방암의 초기 진단으로 타액의

CA 15-3은 좋은 생체 지표로 사용될 수 있다.<sup>120</sup> 유방암과 관련한 타액 내의 성분 중 cathepsin-D, EGF receptor도 탐지가 되었으나 유방암의 status와 명확한 상관관계가 밝혀지지 않았다.<sup>121</sup>

타액 내의 soluble CD44는 두경부암을 진단하는데 사용될 수 있으며 두경부암의 모든 stage에서 유용하다고 보고되었다.<sup>122</sup> 또한 타액의 단백질뿐 아니라 유전체를 통한 악성 종양 진단도 가능한데 타액 내의 IL8, IL1B, DUSP1, HA3, OAZ1, S100P, SAT의 RNA를 qPCR을 통하여 생체 지표로 사용하면 91%의 specificity와 91%의 sensitivity로 구강 편평상피세포암종을 진단할 수 있다.<sup>123</sup>

폐암도 타액을 이용하여 진단하려는 연구가 되고 있는데 폐암은 초기에 특이적인 증상이 없어 초기 진단이 어려운 악성 종양이다. 최근 연구된 보고에 따르면 타액 내의 annexin A1, haptoglobin hp2, zinc  $\alpha$ 2-glycoprotein,  $\beta$ -actin 등 16개 단백질을 초기폐암의 생체지표로 사용할 수 있으며 폐암 환자의 진단 sensitivity 88.5%, specificity는 92.3%를 보였다.<sup>124</sup>

#### 4.2.6 기타 질환

타액을 이용하여 진단할 수 있는 전신 질환은 신장 질환도 있다. 보고된 연구는 많지 않으나 타액 내의 creatinine의 농도가 신장 질환 환자에게서 증가된 경향을 보이는데 100%의 sensitivity, 95.7%의 specificity를 보였다.<sup>125</sup> 말기 신질환(end-stage renal disease; ESRD) 환자의 타액은 비자극 시, 자극 시 모두 분비율이 감소하였으며 비자극 전타액의 경우 타액의 pH buffer capacity의 증가를 보였다.<sup>126</sup>

정신 질환의 환자에게서도 타액의 변화가 나타난다. 주요 우울장애(major depressive disorder; MDD) 환자의 경우 타액 내의 prostaglandin의 농도가 증가하며<sup>127</sup>, 외상 후 스트레스 장애(post-traumatic stress disorder; PTSD) 환자도 trauma에 노출되지 않거나 PTSD 진단을 받지 않은 집단에 비해 높은 evening

saliva cortisol 농도를 보였으나 MDD를 동반한 PTSD 환자에게서만 타액 내 cortisol 농도 상승이 있었고 MDD가 없는 PTSD 환자는 정상적인 cortisol 농도를 보였다.<sup>128</sup> 또한 조현병 (schizophrenia) 환자는 정상 대조군에 비하여 같은 양의 담배를 피워도 니코틴의 대사산물인 코티닌(cotinine)의 타액 내의 농도가 더 높게 나타났다.<sup>129</sup> 또한 여성에서 타액 내의 testosterone은 우울장애, 범불안장애(generalized anxiety disorder), 사회 공포증 (social phobia), 광장공포증(agoraphobia)가 있는 경우 정상보다 낮은 농도를 보였다.<sup>130</sup>

## 제 3 장 결 론

### 제 1 절 진단액으로서 타액의 장점

타액은 혈액을 대체할 진단액으로서 가능성을 가지고 있으나 아직 실제로 임상적으로 사용되는 것은 상당히 제한적이다. 이는 타액을 진단액으로 사용하기에 아직은 부족한 점이 있기 때문인데 혈액에서 생체 지표로 사용되는 여러 물질들이 타액에는 아예 존재하지 않거나 탐지되기 어려울 정도로 낮은 농도로 존재하기 때문이다. 그러나 이러한 문제점은 타액 내 물질을 분석하는 방법과 기술이 발달함에 따라 더 이상 타액을 진단액으로 사용하는데 제한이 되지 않는다.

오히려 타액이 진단액으로서 혈액보다 더 우위를 갖는 장점으로 인하여 관심이 높아지고 있다. 간단하고 비침습적인 채집 방법, 훈련된 채혈사(phlebotomist)가 필요 없다는 점, 바늘 공포증(needle phobia) 환자에게도 쉽게 채집이 가능한 점, 채집 비용과 보관 비용이 보다 저렴하다는 점이 있는데 특히 출혈이 없이 채집을 할 수 있다는 점 때문에 지혈이 어려운 혈우병 또는 항응고제(anticoagulant)를 복용 중인 환자에게서 타액은 혈액을 대체할 좋은 진단액이 되어준다. 또한 출혈이 없다는 점은 혈액을 채집할 때 발생할 수 있는 혈액 내의 감염원으로 인한 위험성을 최소화 시켜 환자뿐만 아니라 의료관련 종사자에게도 타액은 장점을 가진 진단액이다. 타액을 통한 진단은 특히 구강암과 감염 질환에서 높은 sensitivity와 specificity를 보여줘 진단액 자체로서 가치도 높다. HIV 또는 간염 바이러스 진단을 위해 현재 상용화된 제품들은 사용하기 쉽고 진단의 결과를 빠르게 알 수 있기 때문에 치과 치료와 진단을 나누지 않고 치료 전에 진단할 수 있어 1회의 방문으로 환

자와 의사가 모두 안전한 상태에서 진료를 할 수 있다.

본 연구에서는 다루지 않았으나 타액을 이용한 진단에는 약물로 인한 타액의 변화를 분석하여 therapeutic window가 좁은 약물을 안전하게 사용하기 위한 용량 조절, 마약 또는 약물 오남용의 진단이 가능하고 내분비계열의 질환을 타액 내의 호르몬 변화로 진단할 수도 있다. 특히, 스테로이드 계열의 호르몬이 타액 내에서 유용하게 진단할 수 있는 생체 지표로 사용된다. 질병의 진단 이외에도 타액은 DNA 또는 RNA 등 유전체를 가지고 있어 법의학적 분석에도 사용될 수 있다.<sup>80,103</sup>

## 제 2 절 타액의 진단학적 발전

진단액이 실용화되고 신뢰를 얻기 위해서는 높은 specificity와 sensitivity 이외에 기준화(standardization)와 재현성(reproducibility)도 필요하다. 혈액 검사에는 각 성분의 수치의 정상 범위와 병적 기준(cut-off)이 사용되고 있으나 타액은 아직 수치화된 기준이 없다.

타액도 이러한 진단액의 기준을 만들기 위하여 타액 내 단백질을 완전히 분석하고 데이터 베이스화 시키려는 노력이 진행 중이다. National Institute of Dental and Craniofacial Research(NIDCR)와 Scripps Research Institute, University of California-Los Angeles, University of California-San Francisco의 연구팀이 공동으로 Human Salivary Proteome(HSP) 프로젝트를 진행 중이다. 임상적으로 채집된 타액 sample database을 기반으로 Management system for proteomics experimental data(MS-PED)로 database를 확장시키고 이러한 타액의 단백질 정보를 중심화(centralization) 및 통합(integration)시켜 웹 기반 데이터 저장(web-based data storage)으로 사용자가 웹 서버에 접속하여 타

액 내 단백질 정보를 얻을 수 있도록 하는 구조이다. 이를 salivary proteome knowledge base (SPKB)라 하며 이는 타액이 더 보편적으로 진단액으로 사용될 수 있도록 기여할 것이다.<sup>47</sup> 타액이 구강 질환뿐만 아니라 전신 질환을 진단할 수 있는 우리 신체의 전반적인 상태를 비추는 진단액으로 사용됨으로 인하여 치과 의사의 전신적 질환에 대한 접근 가능성을 높여줄 것으로 기대된다.



## 참고 문헌

1. Danila, D. C., Pantel, K., Fleisher, M., & Scher, H. I. (2011). Circulating tumors cells as biomarkers: progress toward biomarker qualification. *The Cancer Journal*, 17(6), 438–450.
2. Gormally, E., Caboux, E., Vineis, P., & Hainaut, P. (2007). Circulating free DNA in plasma or serum as biomarker of carcinogenesis: practical aspects and biological significance. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, 635(2), 105–117.
3. Smith, A. D., Wald, N. J., Cuckle, H. S., Stirrat, G. M., Bobrow, M., & Lagercrantz, H. (1979). Amniotic-fluid acetylcholinesterase as a possible diagnostic test for neural-tube defects in early pregnancy. *The Lancet*, 313(8118), 685–688.
4. Arai, H., Terajima, M., Miura, M., Higuchi, S., Muramatsu, T., Machida, N & Sasaki, H. (1995). Tau in cerebrospinal fluid: a potential diagnostic marker in Alzheimer's disease. *Annals of neurology*, 38(4), 649–652.
5. Slavkin, H. C. (1998). Toward molecularly based diagnostics for the oral cavity. *JOURNAL-AMERICAN DENTAL ASSOCIATION*, 129, 1138–1143.
6. Lee, J. M., Garon, E., & Wong, D. T. (2009). Salivary diagnostics. *Orthodontics & craniofacial research*, 12(3), 206–211.

7. Melvin, J. E., Yule, D., Shuttleworth, T., & Begenisich, T. (2005). Regulation of fluid and electrolyte secretion in salivary gland acinar cells. *Annu. Rev. Physiol.*, 67, 445–469.
8. Haeckel, R., & Hanecke, P. (1996). Application of saliva for drug monitoring an in vivo model for transmembrane transport. *European journal of clinical chemistry and clinical biochemistry*, 34(3), 171–192.
9. Miller, C. S., Foley, J. D., Bailey, A. L., Campell, C. L., Humphries, R. L., Christodoulides, N., ... & McDevitt, J. T. (2010). Current developments in salivary diagnostics. *Biomarkers*, 4(1), 171–189.
10. Baum, B. J. (1993). Principles of saliva secretion. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 694(1), 17–23.
11. Ambudkar, I. S. (2000). Regulation of calcium in salivary gland secretion. *Critical Reviews in Oral Biology & Medicine*, 11(1), 4–25.
12. Proctor, G. B., & Carpenter, G. H. (2007). Regulation of salivary gland function by autonomic nerves. *Autonomic Neuroscience*, 133(1), 3–18.
13. ETTINGER, R. L. (1996). Review: xerostomia: a symptom which acts like a disease. *Age and ageing*, 25(5), 409–412.
14. Shimojo, M., Ricketts, M. L., Petrelli, M. D., Moradi, P., Johnson, G. D., Bradwell, A. R., ... & Stewart, P. M. (1997). Immunodetection of 11 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase type 2 in human mineralocorticoid target tissues: evidence for nuclear localization. *Endocrinology*, 138(3), 1305–1311.

15. Young, W., Khan, F., Brandt, R., Savage, N., Razek, A. A., & Huang, Q. (2001). Syndromes with salivary dysfunction predispose to tooth wear: Case reports of congenital dysfunction of major salivary glands, Prader–Willi, congenital rubella, and Sjögren’ s syndromes. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*, 92(1), 38–48.
16. Hannig, M., & Balz, M. (1999). Influence of in vivo formed salivary pellicle on enamel erosion. *Caries research*, 33(5), 372–379.
17. García–Godoy, F., & Hicks, M. J. (2008). Maintaining the integrity of the enamel surface The role of dental biofilm, saliva and preventive agents in enamel demineralization and remineralization. *The Journal of the American Dental Association*, 139(suppl 2), 25S–34S.
18. Amerongen, A. V., & Veerman, E. C. I. (2002). Saliva—the defender of the oral cavity. *Oral diseases*, 8(1), 12–22.
19. Tao, R., Jurevic, R. J., Coulton, K. K., Tsutsui, M. T., Roberts, M. C., Kimball, J. R., ... & Dale, B. A. (2005). Salivary antimicrobial peptide expression and dental caries experience in children. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 49(9), 3883–3888.
20. Mese, H., & Matsuo, R. (2007). Salivary secretion, taste and hyposalivation. *Journal of oral rehabilitation*, 34(10), 711–723.
21. Henkin, R. I., Lippoldt, R. E., Bilstad, J., & Edelhoch, H. (1975). A zinc protein isolated from human parotid saliva. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 72(2), 488–492.

22. Pedersen, A. M., Bardow, A., Jensen, S. B., & Nauntofte, B. (2002). Saliva and gastrointestinal functions of taste, mastication, swallowing and digestion. *Oral diseases*, 8(3), 117–129.
23. Humphrey, S. P., & Williamson, R. T. (2001). A review of saliva: normal composition, flow, and function. *The Journal of prosthetic dentistry*, 85(2), 162–169.
24. Greabu, M., Battino, M., Mohora, M., Totan, A., Didilescu, A., Spinu, T., ... & Radulescu, R. (2009). Saliva—a diagnostic window to the body, both in health and in disease. *J Med Life*, 2(2), 124–132.
25. Vining, R. F., McGinley, R. A., & Symons, R. G. (1983). Hormones in saliva: mode of entry and consequent implications for clinical interpretation. *Clinical Chemistry*, 29(10), 1752–1756.
26. Kagami, H., Hiramatsu, Y., Hishida, S., Okazaki, Y., Horie, K., Oda, Y., & Ueda, M. (2000). Salivary growth factors in health and disease. *Advances in dental research*, 14(1), 99–102.
27. Bostanci, N., Heywood, W., Mills, K., Parkar, M., Nibali, L., & Donos, N. (2010). Application of label-free absolute quantitative proteomics in human gingival crevicular fluid by LC/MSE (gingival exudatome). *Journal of proteome research*, 9(5), 2191–2199.
28. Gatti, R., & De Palo, E. F. (2011). An update: salivary hormones and physical exercise. *Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports*, 21(2), 157–169.

29. Aps, J. K., & Martens, L. C. (2005). Review: The physiology of saliva and transfer of drugs into saliva. *Forensic Science International*, 150(2), 119–131.
30. Kudielka, B. M., Broderick, J. E., & Kirschbaum, C. (2003). Compliance with saliva sampling protocols: electronic monitoring reveals invalid cortisol daytime profiles in noncompliant subjects. *Psychosomatic medicine*, 65(2), 313–319.
31. Burlage, F. R., Pijpe, J., Coppes, R. P., Hemels, M. E., Meertens, H., Canrinus, A., & Vissink, A. (2005). Variability of flow rate when collecting stimulated human parotid saliva. *European journal of oral sciences*, 113(5), 386–390.
32. Navazesh, M. (1993). Methods for collecting saliva. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 694(1), 72–77.
33. Navazesh, M., & Christensen, C. M. (1982). A comparison of whole mouth resting and stimulated salivary measurement procedures. *Journal of Dental Research*, 61(10), 1158–1162.
34. Veerman, E. C. I., Keybus, P. V. D., Vissink, A., & Amerongen, A. V. (1996). Human glandular salivas: their separate collection and analysis. *European journal of oral sciences*, 104(4), 346–352.
35. Schneyer, L. H. (1955). Method for the collection of separate submaxillary and sublingual salivas in man. *Journal of dental research*, 34(2), 257–261.

36. Márton, K., Boros, I., Fejérdy, P., & Madléna, M. (2004). Evaluation of unstimulated flow rates of whole and palatal saliva in healthy patients wearing complete dentures and in patients with Sjogren's syndrome. *The Journal of prosthetic dentistry*, 91(6), 577–581.
37. Shirtcliff, E. A., Granger, D. A., Schwartz, E., & Curran, M. J. (2001). Use of salivary biomarkers in biobehavioral research: cotton-based sample collection methods can interfere with salivary immunoassay results. *Psychoneuroendocrinology*, 26(2), 165–173.
38. Lu, Y. C., Chatterton Jr, R. T., Vogel song, K. M., & May, L. K. (1997). Direct radioimmunoassay of progesterone in saliva. *Journal of Immunoassay and Immunochemistry*, 18(2), 149–163.
39. Nurkka, A., Obiero, J., Käyhty, H., & Scott, J. A. G. (2003). Effects of sample collection and storage methods on antipneumococcal immunoglobulin A in saliva. *Clinical and diagnostic laboratory immunology*, 10(3), 357–361.
40. Whembolua, G. L. S., Granger, D. A., Singer, S., Kivlighan, K. T., & Marguin, J. A. (2006). Bacteria in the oral mucosa and its effects on the measurement of cortisol, dehydroepiandrosterone, and testosterone in saliva. *Hormones and behavior*, 49(4), 478–483.
41. Ortiz de Montellano, P. R., David, S. K., Ator, M. A., & Tew, D. (1988). Mechanism-based inactivation of horseradish peroxidase by sodium azide. Formation of meso-azidoporphyrin IX. *Biochemistry*, 27(15), 5470–5476.

42. Gröschl, M., Wagner, R., Rauh, M., & Dörr, H. G. (2001). Stability of salivary steroids: the influences of storage, food and dental care. *Steroids*, 66(10), 737–741.
43. El-Hefnawy, T., Raja, S., Kelly, L., Bigbee, W. L., Kirkwood, J. M., Luketich, J. D., & Godfrey, T. E. (2004). Characterization of amplifiable, circulating RNA in plasma and its potential as a tool for cancer diagnostics. *Clinical chemistry*, 50(3), 564–573.
44. Park, N. J., Li, Y., Yu, T., Brinkman, B. M., & Wong, D. T. (2006). Characterization of RNA in saliva. *Clinical chemistry*, 52(6), 988–994.
45. Al-Tarawneh, S. K., Border, M. B., Dibble, C. F., & Bencharit, S. (2011). Defining salivary biomarkers using mass spectrometry-based proteomics: a systematic review. *Omics: a journal of integrative biology*, 15(6), 353–361.
46. Wolters, D. A., Washburn, M. P., & Yates, J. R. (2001). An automated multidimensional protein identification technology for shotgun proteomics. *Analytical chemistry*, 73(23), 5683–5690.
47. David T. Wong. (2008). *Salivary Diagnostics*. Iowa. Wiley-Blackwell.
48. Yates III, J. R., & Kelleher, N. L. (2013). Top Down Proteomics. *Analytical chemistry*.
49. Cardenas, M., Elofsson, U., & Lindh, L. (2007). Salivary mucin MUC5B could be an important component of in vitro pellicles of human saliva: an in situ ellipsometry and atomic force microscopy study. *Biomacromolecules*, 8(4), 1149–1156.

50. Fábíán, T. K., Hermann, P., Beck, A., Fejérdy, P., & Fábíán, G. (2012). Salivary defense proteins: their network and role in innate and acquired oral immunity. *International journal of molecular sciences*, 13(4), 4295–4320.
51. Lis, M., Liu, T. T., Barker, K. S., Rogers, P. D., & Bobek, L. A. (2010). Antimicrobial peptide MUC7 12-mer activates the calcium/calcineurin pathway in *Candida albicans*. *FEMS yeast research*, 10(5), 579–586.
52. White, M. R., Helmerhorst, E. J., Ligtenberg, A., Karpel, M., Tecle, T., Siqueira, W. L., ... & Hartshorn, K. L. (2009). Multiple components contribute to ability of saliva to inhibit influenza viruses. *Oral microbiology and immunology*, 24(1), 18–24.
53. Denny, P. C., Denny, P. A., Takashima, J., Galligan, J., & Navazesh, M. (2007). A novel caries risk test. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1098(1), 204–215.
54. Klock, B., Svanberg, M., & Petersson, L. G. (1990). Dental caries, mutans streptococci, lactobacilli, and saliva secretion rate in adults. *Community dentistry and oral epidemiology*, 18(5), 249–252.
55. Miller, C. S., King, C. P., Langub, M. C., Kryscio, R. J., & Thomas, M. V. (2006). Salivary biomarkers of existing periodontal disease A cross-sectional study. *The Journal of the American Dental Association*, 137(3), 322–329.
56. Ng, P. Y. B., Donley, M., Hausmann, E., Hutson, A. D., Rossomando, E. F., & Scannapieco, F. A. (2007). Candidate salivary biomarkers associated with alveolar bone loss: cross-sectional and in vitro studies. *FEMS Immunology & Medical Microbiology*, 49(2), 252–260.



57. Christodoulides, N., Floriano, P. N., Miller, C. S., Ebersole, J. L., Mohanty, S., Dharshan, P., ... & McDEVITT, J. T. (2007). Lab-on-a-chip methods for point-of-care measurements of salivary biomarkers of periodontitis. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1098(1), 411–428.
58. Lamster, I. B., Kaufman, E., Grbic, J. T., Winston, L. J., & Singer, R. E. (2003).  $\beta$ -Glucuronidase activity in saliva: Relationship to clinical periodontal parameters. *Journal of periodontology*, 74(3), 353–359.
59. Górska, R., & Nędzi-Góra, M. (2006). The effects of the initial treatment phase and of adjunctive low-dose doxycycline therapy on clinical parameters and MMP-8, MMP-9, and TIMP-1 levels in the saliva and peripheral blood of patients with chronic periodontitis. *Archivum immunologiae et therapiae experimentalis*, 54(6), 419–426
60. Totan, A., Greabu, M., Totan, C., & Spinu, T. (2006). Salivary aspartate aminotransferase, alanine aminotransferase and alkaline phosphatase: possible markers in periodontal diseases?. *Clinical Chemical Laboratory Medicine*, 44(5), 612–615.
61. Yoshie, H., Tai, H., Kobayashi, T., Oda-Gou, E., Nomura, Y., Numabe, Y., ... & Kamoi, K. (2007). Salivary enzyme levels after scaling and interleukin-1 genotypes in Japanese patients with chronic periodontitis. *Journal of periodontology*, 78(3), 498–503.

62. Gustafsson, A., Åsman, B., & Bergström, K. (1994). Altered relation between granulocyte elastase and  $\alpha$ -2-macroglobulin in gingival crevicular fluid from sites with periodontal destruction. *Journal of clinical periodontology*, 21(1), 17–21.
63. Palcanis, K. G., Lariava, I. K., Wells, B. R., Suggs, K. A., Landis, J. R., Chadwick, D. E., & Jeffcoat, M. K. (1992). Elastase as an indicator of periodontal disease progression. *Journal of periodontology*, 63(4), 237–242.
64. Nieminen, A., Nordlund, L., & Uitto, V. J. (1993). The effect of treatment on the activity of salivary proteases and glycosidases in adults with advanced periodontitis. *Journal of periodontology*, 64(4), 297–301.
65. Buduneli, N., Bıyıkoğlu, B., Sherrabeh, S., & Lappin, D. F. (2008). Saliva concentrations of RANKL and osteoprotegerin in smoker versus non-smoker chronic periodontitis patients. *Journal of clinical periodontology*, 35(10), 846–852.
66. Frodge, B. D., Ebersole, J. L., Kryscio, R. J., Thomas, M. V., & Miller, C. S. (2008). Bone remodeling biomarkers of periodontal disease in saliva. *Journal of periodontology*, 79(10), 1913–1919.
67. Marr, K. A., & Bowden, R. A. (1999). Fungal infections in patients undergoing blood and marrow transplantation. *Transplant Infectious Disease*, 1(4), 237–246.
68. Tanida, T., Okamoto, T., Okamoto, A., Wang, H., Hamada, T., Ueta, E., & Osaki, T. (2003). Decreased excretion of antimicrobial proteins and peptides in saliva of patients with oral candidiasis. *Journal of oral pathology & medicine*, 32(10), 586–594.

69. Torres, S. R., Peixoto, C. B., Caldas, D. M., Silva, E. B., Akiti, T., Nucci, M., & de Uzeda, M. (2002). Relationship between salivary flow rates and *Candida* counts in subjects with xerostomia. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*, 93(2), 149–154.
70. Ship, J. A., Pillemer, S. R., & Baum, B. J. (2002). Xerostomia and the geriatric patient. *Journal of the American Geriatrics Society*, 50(3), 535–543.
71. Henson, B. S., Inglehart, M. R., Eisbruch, A., & Ship, J. A. (2001). Preserved salivary output and xerostomia-related quality of life in head and neck cancer patients receiving parotid-sparing radiotherapy. *Oral oncology*, 37(1), 84–93.
72. Porter, S. R., Scully, C., & Hegarty, A. M. (2004). An update of the etiology and management of xerostomia. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*, 97(1), 28–46.
73. Smith, R. G., & Burtner, A. P. (1994). Oral side-effects of the most frequently prescribed drugs. *Special care in dentistry*, 14(3), 96–102.
74. Rees, T. D. (1998). Drugs and oral disorders. *Periodontology 2000*, 18(1), 21–36.

75. Izutsu, K. T., Truelove, E. L., Bleyer, W. A., Anderson, W. M., Schubert, M. M., & Rice, J. C. (1981). Whole saliva albumin as an indicator of stomatitis in cancer therapy patients. *Cancer*, 48(6), 1450–1454.
76. Ben-Aryeh, H., Malberger, E., Gutman, D., Szargel, R., & Anavi, Y. (1976). Salivary IgA and serum IgG and IgA in recurrent aphthous stomatitis. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology*, 42(6), 746–752.
77. Wu-Wang, C. Y., Patel, M., Feng, J., Milles, M., & Wang, S. L. (1995). Decreased levels of salivary prostaglandin E<sub>2</sub> and epidermal growth factor in recurrent aphthous stomatitis. *Archives of oral biology*, 40(12), 1093–1098.
78. Kassan, S. S., & Moutsopoulos, H. M. (2004). Clinical manifestations and early diagnosis of Sjogren syndrome. *Archives of internal medicine*, 164(12), 1275.
79. Sreebny, L., & Zhu, W. X. (1996). Whole saliva and the diagnosis of Sjögren's syndrome: an evaluation of patients who complain of dry mouth and dry eyes. Part 1: Screening tests. *Gerodontology*, 13(1), 35–43.
80. Kaufman, E., & Lamster, I. B. (2002). The diagnostic applications of saliva—a review. *Critical Reviews in Oral Biology & Medicine*, 13(2), 197–212.
81. Tishler, M., Yaron, I., Shirazi, I., & Yaron, M. (1997, December). Saliva: an additional diagnostic tool in Sjögren's syndrome. In *Seminars in arthritis and rheumatism* (Vol. 27, No. 3, pp. 173–179). WB Saunders.

82. Konttinen, Y. T., Kulomaa, M., Malmström, M., Kilpi, A., & Reitamo, S. (1984). Lactoferrin in Sjögren's syndrome. *Arthritis & Rheumatism*, 27(4), 462–467.
83. Mandel, I. D., & Baumash, H. (1976). Sialochemistry in Sjögren's syndrome. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology*, 41(2), 182–187.
84. Stuchell, R. N., Mandki, I. D., & Baukmasii, H. (1984). Clinical utilization of sialochemistry in Sjögren's syndrome. *Journal of Oral Pathology & Medicine*, 13(3), 303–309.
85. Slomiany, B. L., Kosmala, M., Nadziejko, C., Murty, V. L. N., Gwozdinski, K., Slomiany, A., & Mandel, I. D. (1986). Lipid composition and viscosity of parotid saliva in Sjögren syndrome in man. *Archives of Oral Biology*, 31(10), 699–702.
86. Reijden, W. A., Kwaak, J. V. D., Veerman, E. C. I., & Amerongen, A. V. (1996). Analysis of the concentration and output of whole salivary constituents in patients with Sjögren's syndrome. *European journal of oral sciences*, 104(4), 335–340.
87. Tishler, M., Yaron, I., Raz, A., Meyer, F. A., & Yaron, M. (1996). Salivary eicosanoid concentration in patients with Sjögren's syndrome. *Annals of the rheumatic diseases*, 55(3), 202–204.
88. Tishler, M., Yaron, I., Shirazi, I., Yossipov, Y., & Yaron, M. (1999). Increased salivary interleukin–6 levels in patients with primary Sjögren's syndrome. *Rheumatology international*, 18(4), 125–127.
89. Tan, E. M. (1989). Antinuclear antibodies: diagnostic markers for autoimmune diseases and probes for cell biology. *Advances in immunology*, 44, 93–151.

90. Ben-Chetrit, E., Fischel, R., & Rubinow, A. (1993). Anti-SSA/Ro and anti-SSB/La antibodies in serum and saliva of patients with Sjogren's syndrome. *Clinical rheumatology*, 12(4), 471–474.
91. Dinwiddie, R. (2000). Pathogenesis of lung disease in cystic fibrosis. *Respiration*, 67(1), 3–8.
92. Blomfield, J., Warton, K. L., & Brown, J. M. (1973). Flow rate and inorganic components of submandibular saliva in cystic fibrosis. *Archives of disease in childhood*, 48(4), 267–274.
93. Wotman, S., Mercadante, J., Mandel, I. D., Goldman, R. S., & Denning, C. (1973). The occurrence of calculus in normal children, children with cystic fibrosis, and children with asthma. *Journal of periodontology*, 44(5), 278–280.
94. Slomiany, B. L., Aono, M., Murty, V. L. N., Slomiany, A., Levine, M. J., & Tabak, L. A. (1982). Lipid composition of submandibular saliva from normal and cystic fibrosis individuals. *Journal of Dental Research*, 61(10), 1163–1166.
95. RIGAS, B., KORENBERG, J., MERRILL, W., & LEVINE, L. (1989). Prostaglandins E<sub>2</sub> and F<sub>2</sub>  $\alpha$  are elevated in saliva of cystic fibrosis patients. *The American journal of gastroenterology*, 84(11), 1408–1412.
96. Aubert, B., Cochet, C., Souvignet, C., & Chambaz, E. M. (1990). Saliva from cystic fibrosis patients contains an unusual form of epidermal growth factor. *Biochemical and biophysical research communications*, 170(3), 1144–1150.

97. Luzza, F., Maletta, M., Imeneo, M., Marcheggiano, A., Iannoni, C., Biancone, L., & Pallone, F. (1995). Salivary-specific immunoglobulin G in the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection in dyspeptic patients. *The American journal of gastroenterology*, 90(10), 1820–1823.
98. Song, Q., Lange, T., Spahr, A., Adler, G., & Bode, G. (2000). Characteristic distribution pattern of *Helicobacter pylori* in dental plaque and saliva detected with nested PCR. *Journal of medical microbiology*, 49(4), 349–353.
99. Schultsz, C., Qadri, F., Hossain, S. A., Ahmed, F., & Ciznar, I. (1992). Shigella-specific IgA in saliva of children with bacillary dysentery. *FEMS Microbiology Letters*, 89(2), 65–72.
100. Krook, A., Fredlund, H., & Holmberg, H. (1986). Diagnosis of pneumococcal pneumonia by detection of antigen in saliva. *European journal of clinical microbiology*, 5(6), 639–642.
101. Schwartz, B. S., Ford, D. P., Childs, J. E., Rothman, N., & Thomas, R. J. (1991). Anti-tick saliva antibody: A biologic marker of tick exposure that is a risk factor for Lyme disease seropositivity. *American journal of epidemiology*, 134(1), 86–95.
102. Bueno, E. C., Vaz, A. J., Machado, L. D. R., & Livramento, J. A. (2000). Neurocysticercosis: detection of IgG, IgA and IgE antibodies in cerebrospinal fluid, serum and saliva samples by ELISA with *Taenia solium* and *Taenia crassiceps* antigens. *Arquivos de Neuro-Psiquiatria*, 58(1), 18–24.

103. Lima, D. P., Diniz, D. G., Moimaz, S. A. S., Sumida, D. H., & Okamoto, A. C. (2010). Saliva: reflection of the body. *International Journal of Infectious Diseases*, 14(3), e184–e188.
104. Matsuda, S., Oka, S., Honda, M., Takebe, Y., & TAKFMORI, T. (1993). Characteristics of IgA Antibodies Against HIV-1 in Sera and Saliva from HIV-Seropositive Individuals in Different Clinical Stages. *Scandinavian journal of immunology*, 38(5), 428–434.
105. Ochnio, J. J., Scheifele, D. W., Ho, M., & Mitchell, L. A. (1997). New, ultrasensitive enzyme immunoassay for detecting vaccine–and disease–induced hepatitis A virus–specific immunoglobulin G in saliva. *Journal of clinical microbiology*, 35(1), 98–101.
106. Thieme, T. H. O. M. A. S., Yoshihara, P., Piacentini, S., & Beller, M. (1992). Clinical evaluation of oral fluid samples for diagnosis of viral hepatitis. *Journal of clinical microbiology*, 30(5), 1076–1079.
107. Perry, K. R., Brown, D. W., Parry, J. V., Panday, S., Pipkin, C., & Richards, A. (1993). Detection of measles, mumps, and rubella antibodies in saliva using antibody capture radioimmunoassay. *Journal of medical virology*, 40(3), 235–240.



108. Thieme, T., Piacentini, S., Davidson, S., & Steingart, K. (1994). Determination of measles, mumps, and rubella immunization status using oral fluid samples. *JAMA: the journal of the American Medical Association*, 272(3), 219–221.
109. Kameyama, T., Sujaku, C., Yamamoto, S., Hwang, C. B. C., & Shillitoe, E. J. (1988). Shedding of herpes simplex virus type 1 into saliva. *Journal of Oral Pathology & Medicine*, 17(9-10), 478–481.
110. Furuta, Y., Fukuda, S., Chida, E., Takasu, T., Ohtani, F., Inuyama, Y., & Nagashima, K. (1998). Reactivation of herpes simplex virus type 1 in patients with Bell's palsy. *Journal of medical virology*, 54(3), 162–166.
111. Burke, D. S., Nisalak, A., Johnson, D. E., & Scott, R. M. (1988). A prospective study of dengue infections in Bangkok. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 38(1), 172–180.
112. Cuzzubbo, A. J., Vaughn, D. W., Nisalak, A., Suntayakorn, S., Aaskov, J., & Devine, P. L. (1998). Detection of specific antibodies in saliva during dengue infection. *Journal of clinical microbiology*, 36(12), 3737–3739.
113. Adam, D. J., Milne, A. A., Evans, S. M., Roulston, J. E., Lee, A. J., Ruckley, C. V., & Bradbury, A. W. (1999). Serum amylase isoenzymes in patients undergoing operation for ruptured and non-ruptured abdominal aortic aneurysm. *Journal of vascular surgery*, 30(2), 229–235.

114. Boyle, J. O., Mao, L., Brennan, J. A., Koch, W. M., Eisele, D. W., Saunders, J. R., & Sidransky, D. (1994). Gene mutations in saliva as molecular markers for head and neck squamous cell carcinomas. *The American journal of surgery*, 168(5), 429–432.
115. Warnakulasuriya, S., Soussi, T., Maher, R., Johnson, N., & Tavassoli, M. (2000). Expression of p53 in oral squamous cell carcinoma is associated with the presence of IgG and IgA p53 autoantibodies in sera and saliva of the patients. *The Journal of pathology*, 192(1), 52–57.
116. Jenzano, J. W., Courts, N. F., Timko, D. A., & Lundblad, R. L. (1986). Levels of glandular kallikrein in whole saliva obtained from patients with solid tumors remote from the oral cavity. *Journal of dental research*, 65(1), 67–70.
117. Di-Xia, C., Schwartz, P. E., & FAN-QIN, L. I. (1990). Saliva and serum CA 125 assays for detecting malignant ovarian tumors. *Obstetrics & Gynecology*, 75(4), 701–704.
118. Navarro, M. A., Mesía, R., Díez-Gibert, O., Rueda, A., Ojeda, B., & Alonso, M. C. (1997). Epidermal growth factor in plasma and saliva of patients with active breast cancer and breast cancer patients in follow-up compared with healthy women. *Breast cancer research and treatment*, 42(1), 83–86.
119. Streckfus, C., Bigler, L., Dellinger, T., Pfeifer, M., Rose, A., & Thigpen, J. T. (1999). CA 15-3 and c-erbB-2 presence in the saliva of women. *Clinical oral investigations*, 3(3), 138–143.

120. Agha–Hosseini, F., Mirzaii–Dizgah, I., & Rahimi, A. (2009). Correlation of serum and salivary CA15–3 levels in patients with breast cancer. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*, 14(10), e521–24.
121. Streckfus, C., Bigler, L., Tucci, M., & Thigpen, J. T. (2000). A preliminary study of CA15–3, c–erbB–2, epidermal growth factor receptor, cathepsin–D, and p53 in saliva among women with breast carcinoma. *Cancer investigation*, 18(2), 101–109.
122. Franzmann, E. J., Reategui, E. P., Carraway, K. L., Hamilton, K. L., Weed, D. T., & Goodwin, W. J. (2005). Salivary soluble CD44: a potential molecular marker for head and neck cancer. *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention*, 14(3), 735–739.
123. Li, Y., John, M. A. S., Zhou, X., Kim, Y., Sinha, U., Jordan, R. C., ... & Wong, D. T. (2004). Salivary transcriptome diagnostics for oral cancer detection. *Clinical Cancer Research*, 10(24), 8442–8450.
124. Xiao, H., Zhang, L., Zhou, H., Lee, J. M., Garon, E. B., & Wong, D. T. (2012). Proteomic analysis of human saliva from lung cancer patients using two–dimensional difference gel electrophoresis and mass spectrometry. *Molecular & Cellular Proteomics*, 11(2).
125. Lloyd, J. E., Broughton, A., & Selby, C. (1996). Salivary creatinine assays as a potential screen for renal disease. *Annals of clinical biochemistry*, 33, 428–431.

126. Kho, H. S., Lee, S. W., Chung, S. C., & Kim, Y. K. (1999). Oral manifestations and salivary flow rate, pH, and buffer capacity in patients with end-stage renal disease undergoing hemodialysis. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*, 88(3), 316–319.
127. Ohishi, K., Ueno, R., Nishino, S., Sakai, T., & Hayaishi, O. (1988). Increased level of salivary prostaglandins in patients with major depression. *Biological psychiatry*, 23(4), 326–334.
128. Young, E. A., & Breslau, N. (2004). Saliva cortisol in posttraumatic stress disorder: a community epidemiologic study. *Biological Psychiatry*, 56(3), 205–209.
129. Strand, J. E., & Nybäck, H. (2005). Tobacco use in schizophrenia: a study of cotinine concentrations in the saliva of patients and controls. *European Psychiatry*, 20(1), 50–54.
130. Giltay, E. J., Enter, D., Zitman, F. G., Penninx, B. W., van Pelt, J., Spinhoven, P., & Roelofs, K. (2012). Salivary testosterone: Associations with depression, anxiety disorders, and antidepressant use in a large cohort study. *Journal of psychosomatic research*, 72(3), 205–213.

## Abstract

# Saliva as a diagnostic fluid

## Diagnoses of oral and systemic diseases

DoYoon Kim

Department of Dentistry

School of Dentistry

Seoul National University

Saliva is a biofluid that protects teeth and assists taste reception and swallowing in oral cavity. In addition, saliva has a potentialities as a diagnostic fluid and has the advantage rather than blood. Nevertheless, the first choice of biofluid for diagnosis is still a blood. Saliva as a diagnostic fluid has merits that saliva can be collected easily and non-invasively and dose not need of well-trained professional phlebotomists. Moreover, the costs of collecting, processing, and storage lower in saliva than in blood. However, saliva had a ‘stumbling block’ which is difficulty in detecting molecular changes of salivary components due to lower level of components than blood. In recent years, developing of mass spectrometry techniques–MALDI–TOF, MS/MS breaks this stumbling block, therefore, low level of components is a problem in using a saliva as a diagnostic fluid no more. Saliva is ‘systemic biofluid’ that contains whole body circulating components from capillary vessels surrounding acinar cell and gingival crevicular fluid, not ‘localized biofluid’

that produced in acinar cell of salivary gland and excreted to oral cavity. Using saliva as a diagnostic fluid can substitute blood for diagnosis of autoimmune disease, cystic fibrosis, infectious disease, cardiovascular disease, malignant tumor, and also oral disease. Saliva is useful tool for expanding fields to the systemic disease over the oral disease to dentists who can most easily contact saliva.

**Keywords : saliva, diagnostic fluid, oral disease, systemic disease**

**Student Number : 2010-22433**