

Streptococcus mutans의 치태형성에 대한 Leuconostoc lactis 51의 영향

김태근 · 양규호 · 오종석*

전남대학교 치과대학 소아치과학교실 및 치의학연구소 · 전남대학교 의과대학 미생물학교실*

국문초록

치아우식증은 치아구조의 국소적, 침윤적, 분자적인 붕괴로 특징지워지는 치아 경조직에 대한 세균성질환이다. 이런 치아우식증의 주 원인균인 *S. mutans*의 치태형성과 증식에 대해 아동의 구강에서 분리된 *L. lactis 51*의 작용을 연구하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 비커 와이어 검사에서 *S. mutans*와 *L. lactis 51*의 혼합배양시 *S. mutans* 단독배양에 비해 치태의 무게가 감소하였다.
2. *S. mutans*는 *S. mutans*와 *L. lactis 51*의 혼합 배양에 비교하여 *S. mutans* 단독배양시에 생균수가 감소하였다.
3. *S. mutans*와 *L. lactis 51*은 M17Y broth에서 단독 및 혼합배양시 배양 12시간 때까지 증가하다가 24시간 때에 감소하였으나, M17YS broth에서는 *S. mutans*와 *L. lactis 51*의 혼합배양시 *S. mutans*의 생균수가 시간이 지남에 따라 감소하였다.
4. *L. lactis 51*의 배양 상청액은 *S. mutans*의 치태형성과 증식에 대해 억제 작용을 하지 못하였다.
5. M17YS broth에서의 *L. lactis 51* 배양 상청액 성분의 thin layer chromatography에서 자당과 과당이 계속 검출되었다.

이상의 결과를 종합하면 구강에서 분리된 *L. lactis 51*는 *S. mutans*의 인공치태 형성과 증식을 억제시키는 것으로 사료된다.

주요어 : *Streptococcus mutans*, 치태형성, *Leuconostoc lactis 51*

1. 서 론

치아우식증은 치아구조의 국소적, 침윤적, 분자적인 붕괴로 특징지워지는 치아 경조직에 대한 세균성 질환이다¹⁾. 치아우식증 발생에 치태가 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있는데, 이러한 치태는 세균과 세균간 기질로 구성되어 있으며, 치태에 존재하는 세균들이 여러 가지 해로운 대사산물을 만들기 때문이다²⁾. 1924년 Clarke³⁾가 최초로 치태로부터 *Streptococcus*를 분리하여 *Streptococcus mutans* (*S. mutans*)라 명명할 때, 치아우식증의 발생에 있어서 가장 중요한 원인균으로 여겨지고 있다⁴⁻⁶⁾.

*S. mutans*는 세균 외부로 glucosyltransferase를 분비하여 자당 (sucrose)에서 분해된 포도당 (glucose)를 이용하여 점착

성의 비수용성 다당류인 글루칸 (glucan)을 합성한다. 이 글루칸은 치태의 기본물질이 되어 *S. mutans*의 글루칸 수용체와 결합하여 치아 표면에 부착되도록 도와 준다. 치태내의 *S. mutans*는 탄수화물의 대사과정을 통하여 다량의 유산을 생성하여 치아 표면을 탈회시켜 치아우식증이 유발된다⁷⁾. *S. mutans*에 의한 치아우식증을 예방하기 위하여 불소의 도포나 양치 등의 방법을 이용하여 치아의 내산성을 높이려는 시도, 탄수화물 섭취를 제한시키는 식이요법⁸⁻⁹⁾, 치아우식증을 유발시키는 세균 억제를 위해 chlorhexidine이나 iodine과 같은 소독제의 치면 도포와 양치¹⁰⁻¹¹⁾, 경구용 penicillin요법¹²⁾, vancomycin¹³⁾과 kanamycin¹⁴⁾의 국소도포 등이 연구되어 왔으나, 장기적인 효과는 기대할 수 없었다.

정상적으로 존재하는 구강내 상주균을 이용하여 치아우식증

을 예방하고자 하는 대처요법에 대한 연구가 되고 있다. 이러한 연구의 시작은 효과적인 대처 세균을 분리하는데 있다. *S. mutans*의 돌연변이종으로 세포내 탄수화물 대사에 결함이 있거나¹⁵⁾, lactate dehydrogenase 활성이 부족하여 유산을 생성하지 못하는 세균은 치아우식 활성이 낮다는 것이 입증되었고¹⁶⁾, *S. mutans*가 구강내 치태를 형성하는 동안 *S. oralis* 등 구강내 일부 세균들은 *S. mutans*의 증식을 억제함으로써 치태형성을 저지하는 역할을 한다고 보고되었다¹⁷⁻¹⁸⁾. 또한 *S. mutans*처럼 치면에 집락을 이루고 치태를 형성하나 치아우식증을 일으키지 않는 *Leuconostoc* 속도 분리되었다.

Leuconostoc 속은 *Streptococcus mutans*와 유전학적으로 가까운 Gram(+), nonmotile, nonsporing cocci로 주로 쌍으로 존재하고 자당이 포함된 배지에서 덱스트란(dextran)을 형성한다. *Streptococcus mutans*는 1→3 결합이 주요 결합인 비수용성 글루칸을 생성하는데 비하여, *Leuconostoc* 속에 의해 생성된 덱스트란은 수용성 α1→6, α1→4, 그리고 α1→3 결합을 갖는 고분자 α-glucan으로 구성되고 α1→6 결합이 가장 많다. *Streptococcus mutans*의 비수용성 글루칸 또는 인공 치태 형성 과정에 *Leuconostoc* 속 대부분이 억제작용을 나타내지는 않는다¹⁹⁻²²⁾.

본 연구에서는 광주광역시에 거주하는 3~6세 아동 1,604명의 구강에서 분리한 *Leuconostoc* 분리균주가 치아우식증의 발생에 중요한 *S. mutans*의 치태형성 및 증식에 미치는 영향을 보았다.

II. 재료 및 방법

1. 공시세균 배양

Streptococcus mutans serotype c (Ingbritt strain)를 공시하였으며, 배양은 동결 건조로 보관중인 세균을 brain heart infusion (BHI, Difco, Detroit, MI, USA) broth에 접종하여 37°C 탄산가스 배양기에서 배양하였다.

2. 비수용성 글루칸 형성 억제능이 있는 세균의 분리

본 실험에 사용된 *Leuconostoc* 분리균주는 유치원 아동의 타액으로 부터 분리하였다. *Leuconostoc*을 분리하기 위하여 타액을 104으로 희석하여 BHI agar에 접종하고 37°C에서 24시간 배양한 후, 글루칸을 만드는 세균 집락을 선택하였다. BHI broth에 0.5% 효모추출액 (yeast extract)과 5% 자당을 첨가한 후 (BHIYS broth), TES (N-tris(Hydroxymethyl)methyl-2-aminoethane-sulfonic acid; 2-((2-Hydroxy-1,1-bis(hydroxymethyl)ethyl)amino)ethane sulfonic acid, Sigma, St. Louis, MO, USA) buffer 농도가 0.1M이 되도록 조정하였다. 그 3ml를 일회용 큐벳에 넣고 50ml의 분리세균 배양액과 50ml의 *S. mutans* 배양액을 접종하였다. 대조군에

서는 *S. mutans* 배양액만 접종하였다. 이것을 탄산가스 배양 기판에 수평면에 대하여 30° 각도로 설치하고 37°C에서 2일간 배양하였다. 내용물을 제거하고 4ml의 증류수로 세척한 후, 3ml의 증류수를 가하여 분광광도계 550nm 파장에서 흡광도를 측정하여 비수용성 글루칸 형성 억제능이 있는 집락을 선택하였다.

3. 분리세균의 동정

비수용성 글루칸 형성 억제능이 있는 집락 세균의 형태학적, 생물학적, 생화학적 성질 등은 Bergey's Manual of Systematic Bacteriology에 있는 방법으로 검사하였다. 균주는 BHI broth에 배양한 후 glycerol의 최종농도가 20% (w/v) 되도록 첨가하여 -70°C에 냉동 보관하면서 필요에 따라 재접종, 배양한 후 실험에 사용하였다.

1) API 20S kit를 이용한 검사

단일 집락만을 증류수에 현탁해서 BHI 고체배지 상에서 37°C에서 24시간 배양하였다. 멸균된 면봉으로 증식된 세균을 취해서 증류수에 현탁하여 Macfarland scale #5로 조정하였는데, 이는 분광 광도계 550nm에서의 흡광도 1.5와 같았다. 세균의 탁도를 조정한 후 API 20Skit (BioMerieux, Marcy l'Etoile, France)에 세균액을 접종하고 37°C에서 4시간 배양하였다. 반응액을 첨가해서 기질의 색깔 변화와 당의 산성화를 관찰하였다. 정확한 동정을 위해 24시간 후 재판독하였다.

2) 탄수화물 발효 검사(Carbohydrate fermentation test)

Phenol red base broth에 amygdalin, cellobiose, fructose, galactose, glucose, lactose, maltose, mannitol, mannose, melibiose, raffinose, ribose, sucrose, 및 trehalose의 최종 농도가 0.5% 되도록 첨가하였다. 이 broth에 균주를 접종한 후 배지의 색깔이 황색으로 변한 것을 양성으로 하였다.

4. *S. mutans*의 인공 치태 형성에 대한 분리균주의 영향

M17YS broth에 0.1M TES buffer를 첨가하여 pH를 7로 조정한 다음, 비커에 40 ml씩 준비하였다. 여기에 *S. mutans*와 분리세균을 각각 2×10⁸씩 접종하고 0.016inch 스테인레스 스틸 재질의 교정용 wire (Ormco, Glendora, CA, USA)를 50mg 내외가 되게 준비하여 3개씩 비커에 매달아 배지에 잠기도록 하였다. 대조군에서는 *S. mutans*만 접종하였다. 37°C 탄산가스 배양기에서 회전시키면서 15시간 배양한 후, 3개의 wire 상에 형성된 인공 치태의 무게를 평균하였다.

5. *S. mutans*와 분리균주의 생균수 변화

분리균주와 *S. mutans* 100μl을 M17Y broth 3ml에 각각 분리, 혼합하여 접종하고, 37℃ 탄산가스 배양기에서 24시간 배양 후 생균수를 산정하였다.

6. 배양시간에 따른 *S. mutans* 증식에 대한 분리균주의 영향

M17Y broth와 M17YS broth에 분리균주와 *S. mutans*을 단독, 또는 혼합하고 37℃ 탄산가스 배양기에서 0, 3, 6, 12, 24시간 배양한 후 생균수를 산정하였다.

7. 분리균주 배양 상청액이 *S. mutans*의 인공 치태 형성과 생균수에 미치는 영향

M17Y broth와 5% 자당을 첨가한 M17YS broth에 0.1 M MOPS(3-(N-Morpholine)propanesulfonic acid) buffer를 첨가하여 분리균주를 37℃에서 24시간 배양한 다음, 3000 rpm으로 20분간 원심하여 상청액을 얻었다. pH를 7로 조정하여 상청액을 끓는물에 3분간 가열한 후 여과하여 균을 사멸시켰다. 배양 상청액 20ml와 2×M17YS broth 20ml를 비커에 준비하였다. 여기에 *S. mutans*를 2×10⁸씩 접종하고 0.016 inch 스테인레스 스틸 재질의 교정용 wire (Ormco, Glendora, CA, USA)를 50mg 내외가 되게 준비하여 3 개씩 비커에 매달아 배지에 잠기도록 하였다. 대조군에서는 *S. mutans*만 접종하였다. 37℃ 탄산가스 배양기에서 회전시키면서 24시간 배양한 후, 3개의 wire 상에 형성된 인공 치태의 무게를 평균하였다. 동시에 세균 배양액을 회석하여 BHI agar상에 접종하여 37℃ 탄산가스 배양기에서 48시간 배양한 후 생균수를 산정하였다.

8. Thin layer chromatography (TLC) 분석

분리균주를 M17YS 10ml에 100μl를 접종하여 37℃ 탄산가스 배양기에서 배양하면서 0, 3, 6, 12, 24시간 때의 분리 균주의 상청액을 TLC 분석법으로 검사하였다. TLC는 Merck의 silica gel 60 aluminium sheets에 1.5μl씩 점적하여 85% acetonitrile을 전개용매로 3번 전개시킨 후, 0.5%(w/v) α-naphthol, 5%(v/v) H₂SO₄를 포함한 메탄올에 담가주고 완전히 건조시킨 후, 121℃에서 10분간 발색시켰다.

III. 성 적

1. 분리균주의 당발효 및 생화학적 특성

API 20s kit를 사용하여 동정된 *Leuconostoc lactis* 51 (*L. lactis* 51)의 당발효 검사와 생화학 검사를 실시한 결과, 분리

균주는 fructose, galactose, glucose, maltose, mannose 및 sucrose를 분해하고 amygdalin, mannitol, melibiose, raffinose, ribose, trehalose는 분해하지 못하였다. 37℃에서 성장했고 Gram stain은 양성으로 쌍을 많이 이루었으며, esculin을 가수분해 하였으나, 6.5% NaCl에서의 성장 및 catalase

Table 1. Biochemical characteristics and carbohydrate fermentation of the isolated *L. lactis* 51

Characteristics	<i>L. lactis</i> 51	<i>L. lactis</i>
Cell Morphology	cocci, mostly pair	pairs and chains
Gram stain	+	+
Catalase test	-	-
Growth at 37℃	+	+
Growth in 6.5% NaCl	-	-
Hydrolysis of esculin	-	-
Amygdalin	-	-
Cellobiose	±	-
Fructose	+	+
Galactose	+	+
Glucose	+	+
Lactose	+	+
Maltose	+	+
Mannitol	-	-
Mannose	+	d
Melibiose	-	d
Raffinose	-	d
Ribose	-	ND
Sucrose	+	+
Trehalose	-	-

d : delayed reaction; ND : not determined



Figure 1. Morphology of *L. lactis* 51 on the brain heart infusion agar.

test에서는 음성을 보였다(Table 1). BHI agar상에서 형성된 colony의 모양은 원형이었다(Fig. 1). 이상의 결과에서 분리균주는 *L. lactis*로 판정하였으며, *L. lactis* 51로 명명하였다.

2. *S. mutans*의 인공치태 형성에 미치는 *L. lactis* 51의 영향

비커 와이어 검사에서 *S. mutans* 단독 배양시 형성된 인공치태 무게는 평균 145.6±39.3mg이었다. *L. lactis* 51 단독 배양시 형성된 인공치태 무게는 평균 0.7±0.2mg이었다. *S. mutans*와 *L. lactis* 51 혼합배양시에는 2.1±1.0mg으로 현저히 감소되었다 (Table 2).

Table 2. The weight of artificial plaque formation on the orthodontic wires by *S. mutans*, *L. lactis* 51 and the mixed culture of *S. mutans* and *L. lactis* 51

Test bacterial strains	Plaque weight ± S.D. (mg)
<i>S. mutans</i>	145.6±39.3
<i>L. lactis</i> 51	0.7±0.2
<i>S. mutans</i> + <i>L. lactis</i> 51	2.1±1.0

Table 4. The effect of incubation time and *L. lactis* 51 on the replication of *S. mutans* in M17Y broth

Incubation time (hour)	Viable cells of <i>S. mutans</i> (/ml)	
	Only	+ <i>L. lactis</i> 51
0	2.07×10 ⁷	1.58×10 ⁷
3	1.54×10 ⁸	1.60×10 ⁸
6	6.42×10 ⁸	2.14×10 ⁸
12	1.71×10 ⁹	3.06×10 ⁸
24	1.29×10 ⁹	2.82×10 ⁸

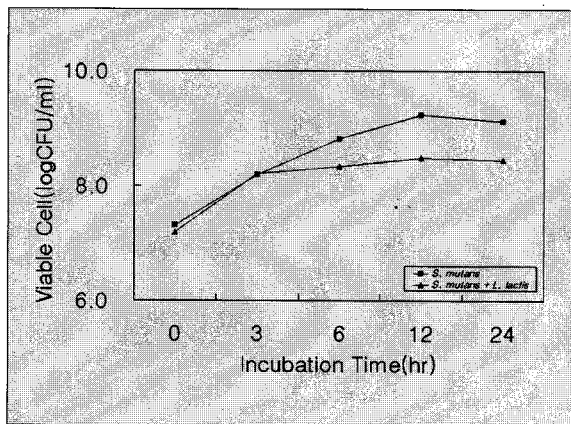


Fig. 2. The effect of incubation time and *L. lactis* 51 on the replication of *S. mutans* in M17Y broth.

3. *S. mutans*와 *L. lactis* 51의 생균수 변화

S. mutans 단독배양시 *S. mutans*의 생균수는 ml당 1.49×10⁹이었고 여기에 *L. lactis* 51을 혼합 배양시 *S. mutans*의 생균수는 5.40×10⁸이었다. *S. mutans*는 약 2.7배 감소하였다. *L. lactis* 51 단독 배양시 생균수는 ml당 3.72×10⁸이었고, *S. mutans* 혼합 배양시 *L. lactis* 51의 생균수는 5.60×10⁷이었다. *L. lactis* 51은 약 6.6배 감소하였다(Table 3).

4. 배양시간에 따른 *L. lactis* 51에 *S. mutans* 증식에의 영향

M17Y broth에서 *S. mutans*는 단독 배양시 ml당 2.07×

Table 3. The viable cell count of *S. mutans*, *L. lactis* 51 or mixed culture

Test bacterial strains	Viable cell count (/ml)	
	<i>S. mutans</i>	<i>L. lactis</i> 51
<i>S. mutans</i>	1.49×10 ⁹	
<i>L. lactis</i> 51		3.72×10 ⁸
<i>S. mutans</i> + <i>L. lactis</i> 51	5.40×10 ⁸	5.60×10 ⁷

Table 5. The effect of incubation time and *S. mutans* on the replication of *L. lactis* 51 in M17Y broth

Incubation time (hour)	Viable cells of <i>L. lactis</i> 51 (/ml)	
	Only	+ <i>S. mutans</i>
0	1.52×10 ⁶	3.72×10 ⁶
3	1.26×10 ⁸	3.04×10 ⁸
6	5.94×10 ⁸	3.38×10 ⁸
12	2.54×10 ⁹	5.54×10 ⁸
24	1.78×10 ⁸	1.02×10 ⁸

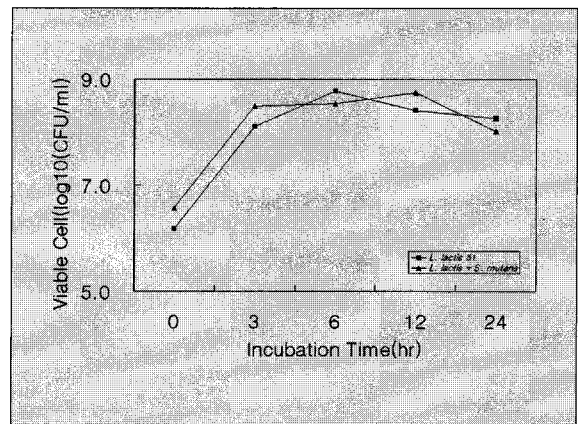


Fig. 3. The effect of incubation time and *S. mutans* on the replication of *L. lactis* 51 in M17Y broth

10⁷개에서 12시간 때 1.71×10⁹로 증가하다가 24시간 때에 1.29×10⁹개로 약간 감소하였으나, 배양 0시간 때보다 생균수가 약 100배 증가하였다. *L. lactis* 51과 혼합배양시 ml당 1.58×10⁷에서 12시간 때 3.06×10⁸개까지 증가하다가 24시간 때 2.82×10⁸개로 약간 감소하였으나, 배양 0시간 때보다 생균수가 약 10배 증가하였다(Table 4, Fig. 2). M17Y broth에서 *L. lactis* 51은 단독 배양시 ml당 1.52×10⁶개에서 12시간 때 2.54×10⁸까지 증가하다가 24시간 때에 1.78×10⁸개로 약간 감소하였으나, 배양 0시간 때 보다 생균수가 약 100배 증가하였다. *S. mutans*와 혼합배양시 ml당 3.72×10⁶에서 12시간 때 5.54×10⁸개까지 증가하다가 24시간때 1.02×10⁸개로 약간 감소하였으나, 배양 0시간 때보다 생균수가 약 50배 증가하였다(Table 5, Fig. 3). M17YS broth에서 *S. mutans*는

단독 배양시 ml당 2.40×10⁷개에서 6시간 때 1.26×10⁸개까지 증가하다가 24시간 때에 3.00×10⁷개로 약간 감소하였다. *L. lactis* 51과 혼합배양시 ml당 1.55×10⁷개에서 24시간 때까지 감소하였으며 ml당 생균수는 2.00×10⁸개였고 배양 0시간 때보다 약 100배 감소하였다(Table 6, Fig. 4). M17YS broth에서 *L. lactis* 51은 단독 배양시 ml당 9.60×10⁷개에서 6시간 때 4.84×10⁸개까지 증가하다가 24시간 때 2.00×10⁸개로 배양 0시간때보다 생균수는 약 48배 감소하였다. *S. mutans*와 혼합배양시 ml당 6.00×10⁶개에서 12시간 때 3.70×10⁸개까지 증가하다가 24시간 때 1.49×10⁷개로 약간 감소하였으나, 배양 0시간 때보다 생균수가 약 2.5배 증가하였다(Table 7, Fig. 5).

Table 6. The effect of incubation time and *L. lactis* 51 on the replication of *S. mutans* in M17YS broth

Incubation time (hour)	Viable cells of <i>S. mutans</i> (/ml)	
	Only	+ <i>L. lactis</i> 51
0	2.40×10 ⁷	1.55×10 ⁷
3	4.40×10 ⁷	8.40×10 ⁶
6	1.26×10 ⁸	6.00×10 ⁶
12	7.60×10 ⁷	2.40×10 ⁶
24	3.00×10 ⁷	2.00×10 ⁶

Table 7. The effect of incubation time and *S. mutans* on the replication of *L. lactis* 51 in M17YS broth

Incubation time (hour)	Viable cells of <i>L. lactis</i> 51 (/ml)	
	Only	+ <i>S. mutans</i>
0	9.60×10 ⁷	6.00×10 ⁶
3	2.80×10 ⁸	1.72×10 ⁸
6	4.84×10 ⁸	3.50×10 ⁸
12	3.20×10 ⁸	3.70×10 ⁸
24	2.00×10 ⁸	1.49×10 ⁷

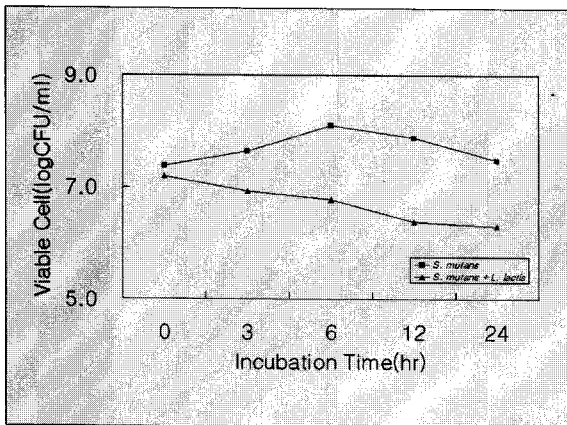


Fig. 4. The effect of incubation time and *L. lactis* 51 on the replication of *S. mutans* in M17YS broth.

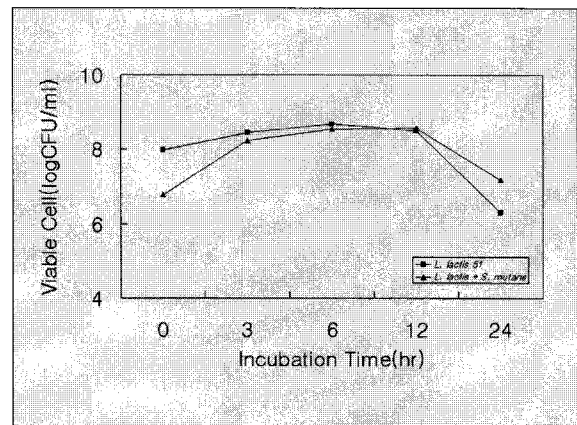


Fig. 5. The effect of incubation time and *S. mutans* on the replication of *L. lactis* 51 in M17YS broth

Table 8. The effect of heated culture supernatant of *L. lactis* 51 on the plaque formation and viable cell count of *S. mutans*

Culture supernatant of <i>L. lactis</i> 51	Plaque weight (mg)	Viable cells of <i>S. mutans</i> (/ml)
Control	109.7	7.60×10 ⁷
Cultured in M17Y broth	143.2	1.84×10 ⁸
Cultured in M17YS broth	130.8	2.52×10 ⁸

Table 9. The effect of *L. lactis* 51 supernatant on the plaque formation and viable cell count of *S. mutans* with filtration.

Culture supernatant of <i>L. lactis</i> 51	Plaque weight (mg)	Viable cells of <i>S. mutans</i> (/ml)
Control	63.5	2.54×10 ⁷
Cultured in M17Y broth	110.6	1.86×10 ⁸
Cultured in M17YS broth	42.0	2.85×10 ⁸



Fig. 6. Thin layer chromatography of *L. lactis* 51 culture supernatant after 0, 3, 6, 12, 24 hours-incubation in CO₂ incubator.

5. *L. lactis* 51 배양 상청액이 *S. mutans*의 인공 치태 형성과 생균수에 미치는 영향

L. lactis 51의 배양 상청액은 가열한 경우 치태형성을 억제하지 못했다. 배양 상청액을 첨가하지 않은 대조군과 M17Y broth, M17YS broth에서 얻은 배양 상청액을 가한 경우 평균 치태의 무게는 각각 109.7mg, 143.2mg, 그리고 130.8mg이었다. *S. mutans*의 생균수는 ml당 각각 7.60×10^7 , 1.84×10^8 , 그리고 2.52×10^8 였다(Table 8).

L. lactis 51의 배양 상청액을 여과한 경우 대조군과 M17Y broth, 또는 M17YS broth에서 얻은 배양 상청액을 가한 경우 평균 치태의 무게는 각각 63.5mg, 110.6mg, 그리고 42.0mg이었다. *S. mutans*의 생균수는 ml당 각각 2.54×10^7 , 1.86×10^8 , 그리고 2.85×10^8 이었다(Table 9).

6. Thin layer chromatograph (TLC) 분석

M17YS broth에서의 *L. lactis* 51 배양 상청액내 성분은 그림 6에서와 같이 배양 시작때는 자당만이 검출되었으나, 배양 3시간에서 24시간 때 까지는 자당과 과당이 검출되었다(Fig. 6).

IV. 고 찰

구강내 3대 질환의 하나인 치아우식증은 병원체 요인인 치태, 숙주요인인 치아와 타액, 환경요인인 구강위생과 식이 등의 세가지 요소에 의한 치아구조의 국소적, 침윤적, 분자적인 붕괴로 특징지어지는 치아 경조직에 대한 세균성 질환이다¹⁾. 이런 치아우식증의 발생에 치태가 주요한 역할을 하는 것으로 하는 것으로 알려져 있으며²⁾, 치태는 타액에서 유래되는 당단백이 범람질 표면에 흡착되어 획득피막을 형성하고 여기에 세균들이 부착하여 증식하게 됨으로써 형성된다. 초기에 부착된 세균은

약하게 결합하고, 나중에 세포의 다당류를 합성하여 강하게 결합한다. 세포의 다당류는 치태에 존재하는 세균에 의해 자당에서 합성되는데 포도당의 중합체인 글루칸과 과당의 중합체인 프럭탄(fructan)으로 구분되며 글루칸은 수용성인 텍스트란과 비수용성인 뮤텐(mutan)으로 구분된다²³⁻²⁴⁾. 치아우식증의 주된 원인균으로 알려진 *S. mutans*에 의해 합성되는 비수용성 글루칸인 뮤텐은 치아표면에 치태를 부착시키고 *S. mutans*를 응집시키는 역할을 하며 *S. mutans*외에 다른 세균들의 증식을 촉진시킨다. 수용성 글루칸인 텍스트란과 프럭탄은 세균의 세포의 에너지 공급원으로 알려져 있다²⁵⁾. 그리고 세균들이 이러한 탄수화물을 분해하여 그 대사과정에서 발생하는 부산물인 유기산을 세포외로 방출함으로써 치아범람질을 탈회시킨다⁶⁾.

치아우식증의 예방을 위해 여러 가지 연구들이 있었다. 불소의 도포나 양치등의 방법을 이용하여 치아의 내산성을 높이려는 시도, 탄수화물 섭취를 제한시키는 식이요법⁸⁻⁹⁾, 치아우식증을 유발시키는 세균 억제제를 위해 chlorhexidine이나 iodine과 같은 소독제의 치면 도포와 양치¹⁰⁻¹¹⁾, 경구용 penicillin요법¹²⁾, vancomycin¹³⁾과 kanamycin¹⁴⁾의 국소도포 등이 연구되어 왔으나, 장기적인 효과는 기대할 수 없었다. 그래서 구강내에 정상적으로 상주하는 세균을 이용하여 치아우식증을 예방하고자 하는 대치용법에 대한 연구가 되고 있다. 무균동물에서 Veillonella 균종을 *S. mutans*와 함께 접종하였을 경우 우식병소가 감소하였다는 보고가 있었으며²⁶⁾, 최근에는 *Streptococcus exfoliatus*와 *Actinomyces viscosus*가 분비하는 mutanase가 인공치태 형성억제 작용이 있다고 보고하였으며²⁷⁻²⁸⁾, *Streptococcus oralis*²⁹⁾, *Enterococcus durans*³⁰⁾, *Streptococcus salivarius*³¹⁾ 등의 인공치태 형성억제 작용에 대한 보고가 있었다.

본 연구에서는 광주광역시에 거주하는 3~6세 아동 1604명의 구강에서 분리한 *L. lactis* 51이 치아우식증의 발생에 중요한 *S. mutans*의 치태형성 및 증식에 미치는 영향을 보았다.

M17YS broth에서의 비커 와이어 검사에서 *S. mutans*와 *L. lactis* 51의 혼합배양시 *S. mutans* 단독배양에 비해 치태의 무게가 현저하게 감소하였고(Table 1), 생균수는 M17Y broth에서 보다 M17YS broth에서 더 많이 감소하였다. 특히 M17YS broth에서 혼합배양시 *S. mutans*의 생균수가 배양 시작 때부터 시간이 지남에 따라 지속적으로 감소하였다. 이와 같은 결과를 종합해 보면 *S. mutans*와 *L. lactis* 51의 혼합배양시 broth에 자당의 첨가로 *S. mutans*의 생균수가 감소하여 치태형성이 억제된 것으로 생각되며, 이 자당은 thin layer chromatography 검사에서 *L. lactis* 51은 글루칸을 합성하였고, 이 글루칸이 *S. mutans*의 증식을 억제하는 것으로 추측된다. *L. lactis* 51에 의해 생성된 글루칸이 비수용성이라고 생각되나, 화학적 구조에 대해서는 연구가 필요하리라 사료된다.

V. 요약

치아우식증의 주 원인균인 *S. mutans*의 치태형성과 증식에 대해 아동의 구강에서 분리된 *L. lactis* 51에 작용을 연구하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 비커와이어검사에서 *S. mutans*와 *L. lactis* 51의 혼합배양시 *S. mutans* 단독배양에 비해 치태의 무게가 감소하였다.
2. *S. mutans*는 *S. mutans*와 *L. lactis* 51의 혼합 배양에 비교하여 *S. mutans* 단독배양시에 생균수가 감소하였다.
3. *S. mutans*와 *L. lactis* 51은 M17Y broth에서 배양 12시간 때까지 증가하다가 24시간 때에 감소하였으나, M17YS broth에서는 *S. mutans*와 *L. lactis* 51의 혼합배양시 *S. mutans*의 생균수가 시간이 지남에 따라 감소하였다.
4. *L. lactis* 51의 배양상청액은 *S. mutans*의 치태형성과 증식에 대해 억제작용을 하지 못하였다.
5. M17YS broth에서의 *L. lactis* 51 배양상청액 성분의 thin layer chromatography에서 자당과 과당이 계속 검출되었다.

이상의 결과로 볼 때 *L. lactis* 51는 *S. mutans*의 치태형성과 증식을 억제시키는 것으로 사료된다. 그러나 추후 *L. lactis* 51에 의한 억제작용의 원인에 대한 연구가 필요하리라 사료된다.

참고 문헌

1. Rosen S: Essential dental microbiology. International edition Appleton & Lange 341-356, 1991.
2. 박기철: 치아플렉(2). 치과연구 43:23-30, 1998.
3. Clarke JK : On the bacterial factor in the aetiology of dental caries. Br J Exp Pathol 5:141-147, 1924.
4. Gibbons RJ, van Houte J : Dental caries. Ann Rev Med 26:121-136, 1975.
5. Loesche WJ : Chemotherapy of dental plaque infections. Oral Sci Rev 9:65-107, 1976.
6. Hamada S, Slade HD : Biology immunology and cariogenicity of *Streptococcus mutans*. Microbiol Rev 44:331-384, 1980.
7. Tanzer JM : Microbiology of dental caries. (In: Contemporary oral microbiology and immunology, edited by Slots J, Taubman M, St Louis) Mosby 377-424, 1992.
8. Zachrisson BU : Fluoride application procedures in

- orthodontic practice. Current concepts Angle ortho 45:72-81, 1975.
9. Hogg SD : Chemical control of plaque. Dental update 17:330-333, 1990.
10. Schaeken MJM, de Haan P : Effects of sustained-release chlorhexidine acetate on the human dental plaque flora. J Dent res 68:119-123, 1989.
11. Caufield PW, Gibbons RJ : Suppression of *Streptococcus mutans* in the mouths of humans by a dental prophylaxis and topically-applied iodine. J Dent Res 58:1317-1326, 1979.
12. Maltz M, Zickert I : Effect of penicillin on *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sanguis* and *Lactobacilli* in hamsters and in man. Scand. J Dent Res 90:193-199, 1982.
13. Depaola PF, Jordan HV, Soparkar PM : Inhibition of dental caries in school children by topically applied vancomycin. Arch Oral Biol 22:187-191, 1977.
14. Loesche WJ, Bradbury DR, Woolfolk MP : Reduction of dental decay in rampant caries individuals following short-term kanamycin treatment. J Dent Res 56:254-265, 1977.
15. Tanzer JM, Freedman ML : Genetic alterations of *Streptococcus mutans* virulence. Adv Exp Med Biol 107:661-672, 1978.
16. Hillman JD : lactate dehydrogenase mutants of *Streptococcus*: Isolation and preliminary characterization. Infect immun 21:206-212, 1978.
17. Lumikari M, Soukka T, Nurmio S, et al : Inhibition of the growth of *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus* and *Lactobacillus casei* by oral peroxidase system in human saliva. Arch Oral Biol 36:155-160, 1991.
18. van der Hoeven JS, Camp PJM : Mixed continuous cultures of *Streptococcus mutans* with *Streptococcus sanguis* or with *Streptococcus oralis* as a model to study the ecological effects of the lactoperoxidase system. Caries Res 27:26-30, 1993.
19. Williams, Wilkins : Bergey's manual of systematic bacteriology volume 2. Baltimore USA Waverly press 1071-1075, 1986.
20. Williams, Wilkins : Bergey's manual of determinative bacteriology, ninth edition. Baltimore USA Waverly press 529-541, 1994.
21. Cerning J : Exocellular polysaccharides produced by lactic acid bacteria. FEMS Microbiol Rev Sep:7(1-2):113-130, 1990.

22. Barreau C, Wagener G : Characterization of *Leuconostoc lactis* strains from human sources. J Clin Microbiol 28(8):1728-1733, 1990.
23. Guggenheim B : Extracellular polysaccharides and microbial plaque. Int Dent J 20:657-678, 1970.
24. Gibbons RJ, Banghart SS : Synthesis of extracellular dextran by cariogenic bacteria and its presence in human dental plaque. Arch Oral Biol 12:11-24, 1967.
25. Toda Y, Moro I, Koga T, et al : Ultrastructure of extracellular polysaccharides produced by serotype c *Streptococcus mutans*. J Dent Res 66:1364-1369, 1987.
26. Mikx FHM, van der Hoeven, Konig KG, et al : Establishment of defined microbial ecosystems in germ-free rats, I. The effect of the interaction of *Streptococcus mutans* or *Streptococcus sanguis* with *Veillonella alcalescens* on plaque formation dental caries activity. Caries Res 6:211-223, 1972.
27. 송도원 : *Streptococcus exfoliatus*가 생성하는 mutanase에 의한 인공치태 억제 작용. 전남대학교 대학원 치의학과 박사학위 논문 1996.
28. 박진경 : 구강내에서 분리된 *Actinomyces viscosus*의 mutan 분해능에 관한 연구. 전남대학교 대학원 치의학과 석사학위 논문 1997.
29. 김선미, 양규호, 오종석 등 : *Streptococcus oralis*의 인공치태 억제효과에 대한 연구. 대한소아치과학회지 26:77-87, 1999.
30. 김용남 : 구강에서 분리한 *Enterococcus durans*의 *Streptococcus mutans*와 *Streptococcus oralis*에 대한 작용. 전남대학교 대학원 치의학과 박사학위 논문 1999.
31. 이민하 : *Streptococcus salivarius* 119의 인공치태 억제 효과에 대한 연구. 전남대학교 대학원 치의학과 박사학위 논문 1999.

Abstract

THE EFFECT OF *LEUCONOSTOC LACTIS* 51 AGAINST THE PLAQUE FORMATION OF
STREPTOCOCCUS MUTANS

Tae-Geun Kim, Kyu-Ho Yang, Jong-Suk Oh*

*Department of Pediatric Dentistry & Dental Science Research Institute, College of Dentistry,
Department of Microbiology, College of Medicine*, Chonnam National University*

Dental caries is a bacterial disease of the dental hard tissue, characterized by a localized, progressive, molecular disintegration of tooth structure. The action of *Leuconostoc lactis* 51 about plaque formation and replication by *Streptococcus mutans* was studied as follows.

1. Lower amount of plaque was produced at the mixed culture of *S. mutans* and *L. lactis* 51 than *S. mutans* alone on the wires in the beaker.
2. Fewer cells of *S. mutans* were replicated at the mixed culture of *S. mutans* and *L. lactis* 51 than *S. mutans* alone.
3. In M17Y broth, viable cells of *S. mutans* and *L. lactis* 51 increased for 12 hours, and decreased for 24 hours. In M17YS broth, viable cells of *S. mutans* showed time-dependent decrease at mixed culture of *S. mutans* and *L. lactis* 51.
4. The culture supernatant of *L. lactis* 51 didn't inhibit the replication of *S. mutans* and the formation of artificial plaque.
5. Sucrose and fructose were extracted from the culture supernatant of *L. lactis* 51 in M17YS broth.

These results suggest that *L. lactis* 51 isolated from the oral cavity inhibits the replication of *S. mutans* and the formation of artificial plaque.

Key Words : *Streptococcus mutans*, *Leuconostoc lactis* 51, Plaque formation