

Streptococcus mutans의 산 생성과 법랑질 탈회에 대한 조난황항체(IgY)의 억제 효과

오세영 · 이광희 · 김대업

원광대학교 치과대학 소아치과학교실 · 원광치의학연구소

국문초록

연구목적은 조(粗)난황항체(IgY)의 *Streptococcus mutans*의 산 생성에 대한 억제 효과 및 법랑질 탈회 억제 효과를 생체 외 실험으로 연구하는 것이었다. Todd Hewitt broth 및 자당이 5% 첨가된 Todd Hewitt broth에서 조난황항체 농도 2.5%에서 17.5%에 따른 *S. mutans*의 산 생성 억제 효과는 2.5%에서 부분적 억제 효과가 있었고 농도가 증가할수록 산 생성이 더 억제되었으며, 항체 농도와 pH 사이에는 배양 후기에 높은 순 상관성이 있었다. 자당이 5% 첨가된 Todd Hewitt broth에서 12시간 배양 후 유치 법랑질 시편의 표면미세경도 변화를 측정하였을 때 조난황항체 농도 2.5%에서 법랑질 탈회 억제효과가 있었고 농도가 증가할수록 더 억제되었으며, 항체 농도와 경도 사이에는 높은 순 상관성이 있었으며, 농도별 탈회 억제율은 2.5%에서 32.28%, 7.5%에서 42.28%, 12.5%에서 64.06%, 17.5%에서 92.79%이었다. 이상의 결과는 조난 황항체를 이용한 수동면역을 통해 치아우식증의 예방이 가능할 것임을 시사한다.

주요어 : 난황항체, *Streptococcus mutans*, 치아우식증, 수동면역

1. 서 론

치아우식증이 *mutans streptococci*의 감염으로 말미암아 발생하는 전염성 질병임¹⁻³⁾이 밝혀지면서 능동면역 또는 수동면역을 통하여 치아우식증의 발생을 방지하기 위한 노력이 이어져 왔으며 분자생물학 및 유전공학 기술의 발달에 힘입어 가까운 장래에 실용화가 가능할 것으로 전망되고 있다⁴⁾. 능동면역⁵⁻²²⁾은 *mutans streptococci* 균체, 표면단백질, 포도당전이효소 등의 항원 백신을 단독으로 또는 각종 보조제와 함께 숙주에 투여하여 특이항체 형성을 유도하는 것으로서 치아우식증에 대한 장기적 방어력을 부여할 수 있으며, 수동면역²³⁻⁴¹⁾은 다른 개체에서 만들어진 *mutans streptococci*에 대한 특이항체를 숙주의 구강에 직접 투여하는 것으로서 치아우식증에 대한 단기적 방어력을 부여한다.

능동면역의 목표는 1세 경에 항원 백신을 주사^{5,6,9,12)}하거나 구강^{7,8,10,11,13)} 또는 비강^{14,15,17,18,20,21)}을 통해 투여하는 방법으로 *mutans streptococci*에 대한 특이항체인 IgA가 타액 속에 분비되도록 점막면역계를 활성화함으로써, 주로 어머니를 통해 전염되는 *mutans streptococci*가 생후 약 2년까지의 특징기간 동안 구강에 안정된 집락을 형성하는 것을 방지하는 것이다^{16,19,22)}.

수동면역에는 혈청내 항체를 분리하여 구강에 투여하는 방법

²³⁾, 젖소를 능동면역한 후 젖소에서 나오는 우유, 유장(乳漿), 초유를 식품에 혼합하여 섭취하거나 구강에 도포하는 방법²⁴⁻²⁷⁾, 모노클로날 항체를 사용하는 방법^{28,29)}, 산란계(産卵鷄)를 능동면역한 후 계란의 난황에 들어있는 특이항체를 이용하는 방법³⁰⁻⁴⁰⁾ 등이 있으며, 녹색 식물을 통한 항체의 생산도 가능하다⁴¹⁾. 이 중에서 난황항체(egg yolk immunoglobulin antibody, IgY)를 이용하는 방법은 혈청항체에 비해 비용효율이 매우 높고³⁵⁾ 조류와 포유동물간의 계통발생학적 차이로 말미암은 생화학적 장점이 있다³⁴⁾. 최근에 국내에서는 벤처기업들에 의하여 '충치예방 계란' 등의 이름으로 난황항체를 이용한 상품이 개발되었다. 그러나 난황항체를 이용한 치아우식증의 수동면역에 대한 연구 보고는 아직까지 국내외적으로 적은 편이다.

국외에서 Hamada 등³²⁾과 Otake 등³³⁾은 *S. mutans*에 대한 난황항체의 구강내 투여가 쥐에서 우식 발생을 유의하게 감소시켰다고 하였고, Hatta 등³⁶⁾은 난황항체를 함유한 구강세정제를 사용한 인체 실험에서 4시간 후 타액 연쇄상구균 중 *S. mutans*의 비율이 감소되었다고 하였으며, Smith 등⁴⁰⁾은 쥐에서 난황항체를 경구 투여한 후 *S. mutans* 수와 우식이 감소하였으며 이 감소는 난황항체 투여의 양 및 기간과 상관성이 있었다고 하였다. Chang 등³⁸⁾은 *S. mutans*에 대한 난황항체의 생산성과 특성에 대하여 보고하였다.

국내에서 손 등³⁷⁾은 난황으로부터 항우식 항체의 분리 및 그 특성에 관하여 보고하였고 김 등³⁹⁾은 *S. mutans*에 대한 난황 항체의 항균력에 관한 생체외 실험에서 긍정적 결과를 보고하였다.

이에 저자는 난황항체를 이용한 치아우식증의 수동면역에 관한 연구의 일환으로, 국내 기업에서 생산된 조(粗)난황항체(IgY)의 *Streptococcus mutans*의 산 생성에 대한 억제 효과 및 법랑질 탈회 억제 효과를 생체외 실험으로 연구하여 그 결과를 보고한다.

II. 연구 재료 및 방법

1. 연구 재료

가. 조난황항체

한국식품개발연구원 식품가공연구본부가 개발한 기술에 근거하여 2000년에 설립된 벤처기업 (주)에그바이오텍으로부터 *Streptococcus mutans*에 대한 특이항체가 포함된 수용성 조(粗)난황항체 분말을 제공받았다. 조난황항체를 Todd Hewitt broth (Difco, USA) 액체 배지에 20% 농도로 녹인 후 여과지(Wattman #1~ #8)로 여과하고 감마선(10 KGy)을 쬐어 멸균한 것을 냉장 보관하면서 실험용 원액으로 사용하였다.

나. *Streptococcus mutans*

원광대학교 치과대학 미생물학교실에서 냉동보관 중이던 *Streptococcus mutans* JC-2 표준 균주를 Brain Heart Infusion(Difco, USA) 배지에 접종하여 탄산가스 배양기(Vision, 한국) 속의 anaerobic jar (BBL gaspack® system, USA)에 넣어 37℃에서 24시간 동안 배양한 것을 사용하였다.

다. 법랑질 시편

생리적 탈락 시기에 발거하여 생리식염수에 넣어 냉장 보관하던, 우식이 없는 건전한 평활면을 가진 유절치를 한 번이 1cm 인 정육면체의 레진피에, 법랑질이 노출되도록 매몰하였다. 노출된 법랑질을 연마기(Metaserv grinder-polisher, Buehler, Germany)를 사용하여 연마하였다. 연마 disk를 300grit에서 1200grit까지 순차적으로 적용하였으며 300μm aluminous suspension을 이용하여 최종 연마하였다. 미세경도 측정기(Model MTX-70, Matsuzawa, Japan)를 사용하여 300g의 하중을 15초간 부여하는 조건에서, 절단면에 근접한 법랑질의 Vickers 경도(VHN)를 세 군데 이상 측정하여 평균을 내었다.

2. 연구 방법

가. 조난황항체의 농도에 따른, Todd Hewitt broth에서의 *S. mutans*의 산 생성 억제 효과

20% 조난황항체 원액과 Todd Hewitt broth를 조난황항체

의 농도가 0%, 2.5%, 5.0%, 7.5%, 10.0%, 12.5%, 15.0%, 17.5%가 되도록 혼합하고, *S. mutans* JC-2 배양액을 접종한 후 초기 pH를 NaOH(Sigma, USA)와 HCl(동양화학, 한국)을 이용하여 pH 7.5에 가깝게 조정하였다. 37℃와 10% CO₂로 맞춘 탄산가스 배양기(Vision, 한국)에 넣어 3, 6, 9, 12, 24시간 동안 배양한 후 pH meter (Orion Expandable Ion Analyzer EA 920, Orion, USA)를 이용하여 각 용액의 pH를 측정하였다.

나. 조난황항체의 농도에 따른, 자당이 첨가된 Todd Hewitt broth에서의 *S. mutans*의 산 생성 억제 효과 및 법랑질 탈회 억제 효과

20% 조난황항체 원액과 Todd Hewitt broth를 위와 동일하게 혼합하고, 자당(Saccharose, 동양화학, 한국)을 모든 용액에서 5%가 되도록 첨가하고 법랑질시편이 매몰된 레진피를 세 개씩 넣었다. *S. mutans* JC-2 배양액을 접종한 후 초기 pH를 위와 동일하게 조정하였다. 37℃와 10% CO₂로 맞춘 탄산가스 배양기(Vision, 한국)에 넣어 3, 6, 12, 24, 48시간 동안 배양한 후 위와 동일하게 각 용액의 pH 변화를 측정하였다. 12시간 배양 후 법랑질시편을 꺼내어 표면미세경도를 측정하였고 SPSS 9.0 프로그램으로 평균치간 차이의 유의성을 검정하였다.

III. 연구성적

1. 조난황항체의 농도에 따른, Todd Hewitt broth에서의 *S. mutans*의 산 생성 억제 효과

조난황항체의 농도가 증가할수록 *S. mutans*의 산 생성이 더 억제된 양상을 나타내었다(Table 1). 조난황항체의 농도별 24시간 배양 후의 pH는 0%가 5.70, 2.5%가 6.28, 5.0%가 6.58, 7.5%가 6.80, 10.0%가 6.98, 12.5%가 7.13, 15.0%가 7.25, 17.5%가 7.30이었다. 시간대별 조난황항체의 농도와 pH간의 Pearson 상관계수는 6시간 후가 0.800, 9시간 후가 0.985, 12시간 후가 0.971, 24시간 후가 0.951로서 높은 순 상관성이 있었다(Table 2).

2. 조난황항체의 농도에 따른, 자당이 첨가된 Todd Hewitt broth에서의 *S. mutans*의 산 생성 억제 효과

조난황항체의 농도가 증가할수록 *S. mutans*의 산 생성이 더 억제된 양상을 나타내었다(Table 3). 0% 용액의 pH가 pH 5.25로 떨어진 12시간 후의 농도별 pH는 2.5%가 5.46, 5.0%가 5.96, 7.5%가 6.41, 10.0%가 6.80, 12.5%가 7.00, 15.0%가 7.06, 17.5%가 7.16이었다. 시간대별 조난황항체의 농도와 pH간의 Pearson 상관계수는 12시간 후가 0.968, 24시간 후가 0.965, 48시간 후가 0.960으로서 높은 순 상관성이

Table 1. Inhibition of acid production of *S. mutans* in Todd-Hewitt broth according to the concentration of crude IgY

IgY	pH					
	0	3	6	9	12	24 hrs
0%	7.58	7.26	6.98	6.25	5.99	5.70
2.5	7.58	7.28	7.12	6.61	6.46	6.28
5.0	7.55	7.20	6.99	6.72	6.71	6.58
7.5	7.52	7.16	6.96	6.85	6.81	6.80
10.0	7.52	7.14	7.06	7.01	7.00	6.98
12.5	7.52	7.20	7.14	7.12	7.15	7.13
15.0	7.56	7.28	7.26	7.26	7.28	7.25
17.5	7.60	7.38	7.38	7.38	7.40	7.30

Table 3. Inhibition of acid production of *S. mutans* in 5% sucrose Todd-Hewitt broth according to the concentration of crude IgY

IgY	pH					
	0	3	6	9	12	24 hrs
0%	7.56	7.41	7.39	5.25	4.50	4.24
2.5	7.53	7.40	7.39	5.46	4.66	4.31
5.0	7.52	7.39	7.32	5.96	4.81	4.35
7.5	7.47	7.33	7.29	6.41	4.86	4.49
10.0	7.53	7.37	7.35	6.80	5.16	5.00
12.5	7.57	7.40	7.39	7.00	5.42	5.22
15.0	7.51	7.40	7.32	7.06	5.50	5.43
17.5	7.55	7.39	7.36	7.16	6.12	6.02

Table 5. Inhibition of enamel demineralization by *S. mutans* in 5% sucrose Todd-Hewitt broth according to the concentration of crude IgY

IgY	Enamel surface microhardness (Vickers Hardness Number)				
	Before incubation	After 12 hrs incubation	Difference*	Reduction rate(%)	Inhibition rate (%)
0 %	304.70 ^a ±21.31	207.10 ^a ±25.38	97.60 ^a ±10.39	32.19 ^a ±4.35	-
2.5	314.68 ^a ±10.83	246.24 ^b ±14.77	68.44 ^b ±5.00	21.80 ^b ±2.25	32.28
5.0	308.96 ^a ±21.54	252.62 ^{bc} ±18.78	56.34 ^a ±18.18	18.14 ^b ±4.97	43.65
7.5	312.18 ^a ±14.80	254.20 ^{bc} ±19.15	57.98 ^b ±14.35	18.58 ^b ±4.39	42.28
10.0	306.94 ^a ±7.95	272.44 ^{cd} ±8.20	34.50 ^c ±10.81	11.20 ^c ±3.36	65.21
12.5	308.28 ^a ±13.13	272.64 ^{cd} ±12.52	35.64 ^c ±1.51	11.57 ^c ±0.54	64.06
15.0	316.74 ^a ±11.60	289.94 ^{de} ±12.77	26.80 ^c ±4.82	8.47 ^{cd} ±1.54	73.69
17.5	306.48 ^a ±13.08	299.40 ^e ±15.33	7.08 ^d ±6.66	.32 ^d ±2.22	92.79
Totals	309.87 ±14.15	261.82 ±31.16	48.05 ±28.17	15.53 ±9.21	
ANOVA, Sig.	0.895	0.000	0.000	0.000	

Mean±SD; N=5

Values in columns having the same letter were not significantly different (P>0.05)

* : Significant (P<0.05) in each concentration except 17.5%

Table 2. Correlation between crude IgY concentration and pH

IgY concentration	pH after incubation for				
	3	6	9	12	24 hrs
IgY concentration	NS	0.800*	0.985*	0.971*	0.951*

Pearson correlation coefficient

NS : Not Significant; * : P<0.05

Table 4. Correlation between crude IgY concentration and pH

IgY concentration	pH after incubation for				
	3	6	12	24	48 hrs
IgY concentration	NS	NS	0.968*	0.965*	0.960*

Pearson correlation coefficient

NS : Not Significant; * : P<0.05

Table 6. Correlation between crude IgY concentration and demineralization

	Enamel surface microhardness		
	After incubation	Difference	Reduction rate(%)
IgY concentration	0.836*	-0.909*	-0.909*

Pearson correlation coefficient: * : P<0.01

있었다(Table 4).

3. 조난황항체의 농도에 따른, 자당이 첨가된 Todd Hewitt broth에서의 *S. mutans*의 법랑질 탈회 억제 효과

탈회 후 법랑질 표면미세경도, 표면미세경도의 감소치 및 감소율은 조난황항체가 첨가된 군들이 첨가되지 않은 군에 비해 모두 유의하게 높았으며(P<0.05), 조난황항체의 농도가 증가할수록 법랑질 탈회가 더 억제되는 양상을 나타내었다(Table 5). 법랑질 표면미세경도의 감소율로 보았을 때 조난황항체의 농도별 억제 효과는 2.5%가 32.28%, 5.0%가 43.58%, 7.5%가 42.28%, 10.0%가 65.21%, 12.5%가 64.06%, 15.0%가 73.69%, 17.5%가 92.79%이었다. 탈회 후 조난황항체의 농도와 법랑질 표면미세경도간의 Pearson 상관계수는 0.836이었고, 조난황항체의 농도와 표면미세경도의 감소율간의 Pearson 상관계수는 -0.909이었다(Table 6).

IV. 총괄 및 고찰

산란계가 획득한 면역항체가 난황 속으로 옮겨져 축적되고 자손에 전해지는 것을 조류 등의 난생동물에서 특징적인 모자(母子) 면역기능이라 하며, 세균, 바이러스, 단백질 등의 항원을 산란계(産卵鷄)에 면역시키면 그에 대응하는 특이 항체가 난황 속으로 옮겨져 축적되는 사실이 확인되었다^{30,31}.

항체생산에 전통적으로 사용되어 온 포유동물과 비교할 때 산란계는 비용효율이 매우 높다. Hatta 등³⁵에 따르면, 계란을 통한 닭의 항 바이러스 IgY의 생산성은 혈청에서 얻는 토끼에 비해 균주에 따라 최소 15배에서 120배까지 효율적이었다.

또한, Larsson 등³⁴에 따르면 조류와 포유동물 중 간의 계통 발생학적 차이로 말미암아 닭의 항체는 포유동물의 항체에 비해 생화학적인 장점이 있어서, 닭의 항체는 사람의 보체계(complement system)를 활성화하지 않고 류머티즘 인자, 항구강 IgG 항체, Fc(fragment crystallizable) 수용체 등과 반응하지 않는다고 한다.

닭에는 IgG, IgA, IgM 등 세 가지 종류의 항체가 혈액내에 존재하는데 계란 생성 과정 중 난백으로 IgM과 IgA가 이동되고 IgG는 난황에만 축적되며, 난황은 수용성 단백질(livetin)과 지용성 단백질(lipoprotein)이 연속상으로 섞여 있는 형태로서

난황내의 IgG 즉 IgY 자체도 livetin이고, 난황의 지용성 단백질을로부터 수용성 단백질을 분리해 낸 것이 조난황항체이다⁴².

손 등³⁷은 계란 하나가 65g, 난황이 15g일 때 난황에서 수용성 단백질 즉 조난황항체(crude IgY)는 850mg을 분리해 낼 수 있고, 조난황항체 중에서 난황항체(IgY)는 20%인 170mg이며, 난황항체 중에서 *S. mutans*에 대한 특이항체는 61%인 104mg이었다고 하였다. 그러나 조난황항체, 난황항체, 특이항체의 양과 비율은 고정된 것이 아니고, 면역항체 생산에 관련된 수많은 조건들에 따라 변할 수 있다고 보아야 할 것이다.

난황항체를 사용한 우식예방에 관한 연구보고는 아직 많지 않다. Hamada 등³²은 *S. mutans*의 포도당전이효소에 대한 특이 난황항체로 쥐를 경구 수동면역시킨 결과, 치아우식증의 발생이 유의하게 감소하였다고 하였고, Otake 등³³은 쥐에게 2% 이상의 난황을 함유한 우식유발성 사료를 먹인 결과, 우식 점수가 유의하게 낮아졌음을 보고하였으며, Hatta 등³⁶은 난황항체가 hydroxyapatite에 대한 *S. mutans*의 부착을 59.2%까지 억제하였고, 10% 자당을 함유한 구강세정제를 사용한 단기간(4시간) 검사에서 타액 연쇄상구균 중 *S. mutans*의 백분율을 감소시켰다고 하였다. 국내에서 김 등³⁹은 *S. mutans*에 대한 특이 난황항체의 항균력을 검사한 후, 조난황항체를 사용하여 우식을 예방하는 것이 가능하다는 결론을 내렸다.

조난황항체를 이용한 우식예방의 구체적 방법으로 국내 벤처기업들이 시도하고 있는 것은 조난황항체를 계란의 형태로 섭취하거나 조난황항체를 각종 식품에 첨가하는 것이다. 이 때 한 가지 문제는 조난황항체가 단백질이기 때문에 열에 약하다는 것인데, 손 등³⁷은 조난황항체가 70℃까지 50% 이상의 활성을 유지하였다고 하였고, Chang 등³⁸은 고농도 자당, 맥아당, 글리세롤 또는 2% 글라이신을 첨가하는 것이 조난황항체의 열변성에 대한 보호 효과가 있었다고 하였다. 조난황항체를 실제로 우식예방에 활용하기까지는 세부적인 기술과 관련하여 아직도 많은 연구가 필요하다고 생각되었다.

연구성적에서 조난황항체의 농도에 따른 *S. mutans*의 산 생성 억제 효과는 조난황항체의 농도가 증가할수록 *S. mutans*의 산 생성이 더 억제된 양상을 나타내었고(Table 1, 3) 시간대별 조난황항체의 농도와 pH 사이에는 높은 순 상관성이 있었다(Table 2, 4). 억제효과는 최소 농도인 2.5%에서도 나타났으며 최고농도인 17.5%에서도 산 생성이 완전히 억제되지 않았다. 조난황항체의 농도에 따른 *S. mutans*의 법랑질 탈회 억제 효과는 조난황항체의 농도가 증가할수록 법랑질 탈회가 더 억제되는 양상을 나타내었고(Table 5) 탈회 후 조난황항체의 농도와 법랑질 표면미세경도 사이에는 높은 순 상관성이 있었다(Table 6).

5% 자당이 첨가된 Todd-Hewitt broth에서의 *S. mutans*의 산 생성이 자당이 첨가되지 않은 Todd Hewitt broth에서의 *S. mutans*의 산 생성보다 월등히 컸던 것은, Todd Hewitt broth에 포도당이 2.0 g/l 즉 0.2%의 저농도로 포함되어 있어, 발효되어 산을 생성할 수 있는 탄수화물의 양이 적었기 때

문이라고 볼 수 있을 것이다.

한편, Todd Hewitt broth 자체는 약알칼리성이고 조난황향체 자체와 *S. mutans* JC-2 배양액은 산성이어서 실험용액의 초기 pH가 조난황향체의 농도에 따라 다르게 나타났으므로 NaOH와 HCl을 이용하여 초기 pH를 7.5에 가깝게 조정하였다.

5% 자당첨가 배지에서 24시간, 48시간 배양 후 pH가 전체적으로 하강한 현상은 장시간의 배양에서는 세균의 수가 꾸준히 증가하는 데 비해 반응할 수 있는 항체의 양이 계속 감소하기 때문이라고 설명할 수 있을 것이다. 조난황향체의 농도가 낮은 2.5%군과 5.0%군에서 pH의 급격한 하강이 6시간과 12시간 사이에 일찍 일어났고 농도가 높은 10.0% 이상 군에서는 12시간과 24시간 사이에 늦게 일어났다. 실제로 구강을 통한 수동면역에서 특이항체가 어느 정도의 양으로 얼마나 자주 공급되어야 하는가는 앞으로 연구되어야 할 과제이다.

연구에 사용된 조난황향체가 예비검사에서 미생물 오염이 있는 것으로 나타났기 때문에 멸균을 시행한 후 실험에 사용하였다. 조난황향체가 수용성 단백질이므로 미생물 오염을 제거하기 위해 membrane filter를 사용한 여과제균을 시도하였으나, 김 등³⁹⁾의 보고와는 달리 용액내 입자 크기가 커서 membrane filter를 대부분 통과하지 못한다는 것을 알게 되어 시행할 수 없었고, 고압증기멸균은 단백질인 조난황향체가 열로 변성될 것이기 때문에 할 수가 없었으며, 감마선 조사로 멸균을 시행하였다. 조난황향체의 용해성 및 보다 실용적인 멸균 방법은 앞으로의 연구에서 밝혀져야 할 것이라고 생각되었다.

또한, Hatta 등³⁶⁾의 방법에 따라 사람을 대상으로 조난황향체가 포함된 구강세정제 실험을 기획하였으나, 조난황향체를 물에 녹였을 때 계란 비린내 등의 불쾌한 냄새가 났기 때문에, 피험자들의 협조를 얻기가 어렵다고 판단되어 시도되지 않았다. 이것도 앞으로의 연구에서 해결되어야 할 과제라고 생각되었다.

이 연구에서 사용된 조난황향체는 (주)에그바이오텍으로부터 제공받은 것으로서 식품이나 구강위생용품 등에 첨가하기 전의 원 재료 상태이며 특이항체의 농도 등이 확인되어 있는 표준화된 제품을 사용한 것은 아니었다. 따라서 이 연구에 나타난 조난황향체의 농도는 절대치로 간주될 수는 없으며, 단지 조난황향체의 농도가 증가할수록 *S. mutans*의 산 생성과 법랑질 탈회에 대한 억제력이 커진다는 사실이 확인되었음을 의미있게 받아들일 수 있을 것이다.

V. 결 론

난황향체를 이용한 치아우식증의 수동면역에 관한 연구의 일환으로, 국내 기업 (주)에그바이오텍에서 생산된 조(粗)난황향체(IgY)의 *Streptococcus mutans*의 산 생성에 대한 억제 효과 및 법랑질 탈회 억제 효과를 생체의 실험으로 연구하였다.

Todd Hewitt broth 및 자당이 5% 첨가된 Todd Hewitt

broth에서 조난황향체의 농도 2.5%에서 17.5%에 따른 *S. mutans*의 산 생성 억제 효과는 2.5%에서 부분적 억제 효과가 있었고 농도가 증가할수록 *S. mutans*의 산 생성이 더 억제되었으며, 조난황향체의 농도와 pH 사이에는 배양 후기에 높은 순 상관성이 있었다. 자당이 5% 첨가된 Todd Hewitt broth에서 12시간 배양 후 유치 법랑질 시편의 표면미세경도 변화를 측정하였을 때 조난황향체의 농도 2.5%에서 법랑질 탈회 억제 효과가 있었고 농도가 증가할수록 더 억제되었으며, 조난황향체의 농도와 경도 사이에는 높은 순 상관성이 있었으며, 농도별 탈회 억제율은 2.5%에서 32.28%, 7.5%에서 42.28%, 12.5%에서 64.06%, 17.5%에서 92.79%이었다.

조난황향체의 농도가 증가할수록 *S. mutans*의 산 생성과 법랑질 탈회에 대한 억제력이 커짐이 확인되었으므로 조난황향체를 이용한 치아우식증의 수동면역과 그를 통한 치아우식증의 예방이 가능할 것이라고 판단되며, 실용화 기술 및 인체내 효과에 대하여는 많은 후속 연구가 필요하다고 생각된다.

참고문헌

1. Loesche WJ, Rowan J, Straffon LH, Loos PJ : Association of *Streptococcus mutans* with human dental decay. *Infect Immun* 11:1252-1260, 1975.
2. Bratthall D, Kohler B : *Streptococcus mutans* serotypes: some aspects of their identification, distribution, antigenic shifts, and relationship to caries. *J Dent Res* 55 Spec No:C15-21, 1976.
3. Loesche WJ, Straffon LH : Longitudinal investigation of the role of *Streptococcus mutans* in human fissure decay. *Infect Immun* 26:498-507, 1979.
4. Westphal SP : Look! No fillings. *New Scientist* 171(issue 2308):17, 2001.
5. Michalek SM, McGhee JR : Effective immunity to dental caries: passive transfer to rats to antibodies to *Streptococcus mutans* elicits protection. *Infect Immun* 17:644-650, 1977.
6. Taubman MA, Smith DJ : Effects of local immunization with glucosyltransferase fractions from *Streptococcus mutans* on dental caries in rats and hamsters. *J Immunol* 118:710-720, 1977.
7. Michalek SM, McGhee JR, Arnold RR, Mestecky J : Effective immunity to dental caries: selective induction of secretory immunity by oral administration of *Streptococcus mutans* in rodents. *Adv Exp Med Biol* 107:261-269, 1978.
8. McGhee JR, Mestecky J, Arnold RR, et al. : Induction of secretory antibodies in humans following ingestion of *Streptococcus mutans*. *Adv Exp*

- Med Biol 107:177-184, 1978.
9. Smith DJ, Taubman MA, Ebersole JL : Effects of local immunization with glucosyltransferase fractions from *Streptococcus mutans* on dental caries in hamsters caused by homologous and heterologous serotypes of *Streptococcus mutans*. Infect Immun 21:843-851, 1978.
 10. Smith DJ, Taubman MA, Ebersole JL : Effect of oral administration of glucosyltransferase antigens on experimental dental caries. Infect Immun 26:82-89, 1979.
 11. Kiyono H, Michalek SM, Mosteller LM, et al. : Enhancement of murine immune responses to orally administered haptened *Streptococcus mutans*. Scand J Immunol 16:455-463, 1982.
 12. Gregory RL, Michalek SM, Shechmeister IL, McGhee JR : Effective immunity to dental caries: protection of gnotobiotic rats by local immunization with a ribosomal preparation from *Streptococcus mutans*. Microbiol Immunol 27:787-800, 1983.
 13. Michalek SM, Morisaki I, Harmon CC, et al. : Effective immunity to dental caries: gastric intubation of *Streptococcus mutans* whole cells or cell walls induces protective immunity in gnotobiotic rats. Infect Immun 39:645-654, 1983.
 14. Takahashi I, Okahashi N, Kanamoto T, et al. : Intranasal immunization of mice with recombinant protein antigen of serotype c *Streptococcus mutans* and cholera toxin B subunit. Arch Oral Biol 35:475-477, 1990.
 15. Katz J, Harmon CC, Buckner GP, et al. : Protective salivary immunoglobulin A responses against *Streptococcus mutans* infection after intranasal immunization with *S. mutans* antigen I/II coupled to the B subunit of cholera toxin. Infect Immun 61:1964-1971, 1993.
 16. Russell MW, Hajishengallis G, Childers NK, Michalek SM : Secretory immunity in defense against cariogenic *mutans streptococci*. Caries Res 33:4-15, 1999.
 17. Jespersgaard C, Hajishengallis G, Huang Y, et al. : Protective immunity against *Streptococcus mutans* infection in mice after intranasal immunization with the glucan-binding region of *S. mutans* glucosyltransferase. Infect Immun 67:6543-6549, 1999.
 18. Fontana M, Dunipace AJ, Stookey GK, Gregory RL : Intranasal immunization against dental caries with a *Streptococcus mutans*-enriched fimbrial preparation. Clin Diagn Lab Immunol 6:405-409, 1999.
 19. Hajishengallis G, Michalek SM : Current status of a mucosal vaccine against dental caries. Oral Microbiol Immunol 14:1-20, 1999.
 20. Saito M, Otake S, Ohmura M, et al. : Protective immunity to *Streptococcus mutans* induced by nasal vaccination with surface protein antigen and mutant cholera toxin adjuvant. J Infect Dis 183:823-826, 2001.
 21. Smith DJ, King WF, Barnes LA, et al. : Facilitated intranasal induction of mucosal and systemic immunity to mutans streptococcal glucosyltransferase peptide vaccines. Infect Immun 69:4767-4773, 2001.
 22. Michalek SM, Katz J, Childers NK : A Vaccine against Dental Caries: An Overview. BioDrugs 15:501-508, 2001.
 23. Lehner T, Russell MW, Challacombe SJ, et al. : Passive immunisation with serum and immunoglobulins against dental caries in rhesus monkeys. Lancet 1(8066):693-695, 1978.
 24. Michalek SM, Gregory RL, Harmon CC, et al. : Protection of gnotobiotic rats against dental caries by passive immunization with bovine milk antibodies to *Streptococcus mutans*. Infect Immun 55:2341-2347, 1987.
 25. Filler SJ, Gregory RL, Michalek SM, et al. : Effect of immune bovine milk on *Streptococcus mutans* in human dental plaque. Arch Oral Biol 36:41-47, 1991.
 26. Loimaranta V, Tenovuo J, Virtanen S, et al. : Generation of bovine immune colostrum against *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sobrinus* and its effect on glucose uptake and extracellular polysaccharide formation by *mutans streptococci*. Vaccine 15:1261-1268, 1997.
 27. Loimaranta V, Laine M, Soderling E, et al. : Effects of bovine immune and non-immune whey preparations on the composition and pH response of human dental plaque. Eur J Oral Sci 107:244-250, 1999.
 28. Lehner T, Caldwell J, Smith R : Local passive immunization by monoclonal antibodies against streptococcal antigen I/II in the prevention of dental caries. Infect Immun 50:796-769, 1985.
 29. Ma JK, Smith R, Lehner T : Use of monoclonal antibodies in local passive immunization to prevent colonization of human teeth by *Streptococcus mu-*

- tans. Infect Immun 55:1274-1278, 1987.
30. Polson A, von Wechmar MB : Isolation of viral IgY antibodies from yolks of immunized hens. Immunol Commun 9:475-481, 1980.
 31. Shimizu M, Fitzsimmons RC, Nakai S : Anti- E. Coli immunoglobulin Y isolated from egg yolk immunized chickes as a potential food ingredient. J Food Sci 53:1360-1366, 1988.
 32. Hamada S, Horikoshi T, Minami T, et al. : Oral passive immunization against dental caries in rats by use of hen egg yolk antibodies specific for cell-associated glucosyltransferase of *Streptococcus mutans*. Infect Immun 59:4161-4167, 1991.
 33. Otake S, Nishihara Y, Makimura M, et al. : Protection of rats against dental caries by passive immunization with hen-egg-yolk antibody (IgY). J Dent Res 70:162-166, 1991.
 34. Larsson A, Balow RM, Lindahl TL, Forsberg PO : Chicken antibodies: taking advantage of evolution - a review. Poult Sci 72:1807-1812, 1993.
 35. Hatta H, Tsuda K, Akachi S, et al. : Productivity and some properties of egg yolk antibody (IgY) against human rotavirus compared with rabbit IgG. Biosci Biotechnol Biochem 57:450-454, 1993.
 36. Hatta H, Tsuda K, Ozeki M, et al. : Passive immunization against dental plaque formation in humans: effect of a mouth rinse containing egg yolk antibodies (IgY) specific to *Streptococcus mutans*. Caries Res 31:268-274, 1997.
 37. 손동화, 노정해, 김영봉 등 : 난황으로부터 항충치 항체의 분리 및 그 특성. 한국식품과학회지 30:1029-1034, 1998.
 38. Chang HM, Ou-Yang RF, Chen YT, Chen CC : Productivity and some properties of immunoglobulin specific against *Streptococcus mutans* serotype c in chicken egg yolk (IgY). J Agric Food Chem 47(1):61-66, 1999.
 39. 김영봉, 노정해, 손동화 등 : *Streptococcus mutans*에 대한 specific IgY의 항균력. 한국식품과학회지 32:1319-1325, 2000.
 40. Smith DJ, King WF, Godiska R : Passive transfer of immunoglobulin Y antibody to *Streptococcus mutans* glucan binding protein B can confer protection against experimental dental caries. Infect Immun 69:3135-3142, 2001.
 41. Ma JK : The caries vaccine: a growing prospect. Dent Update 26:374-380, 1999.
 42. 김경수 : IgY 생산기술의 동향. (주)씨트리 중앙연구소, 2001. (www.kscia.or.kr)

Abstract

INHIBITORY EFFECT OF CRUDE IgY ON ACID PRODUCTION AND
ENAMEL DEMINERALIZATION BY STREPTOCOCCUS MUTANS

Se-Yeong Oh, D.D.S., M.S.D., Kwang-Hee Lee, D.D.S., M.S.D., Ph.D.,
Dae-Eup Kim, D.D.S., M.S.D., Ph.D.,

*Department of Pediatric Dentistry, Wonkwang Dental Research Institute,
College of Dentistry, Wonkwang University*

The purpose of study was to determine the effectiveness of crude IgY to *S. mutans* in preventing the acid production and the demineralization of primary tooth enamel in vitro. The acid production by *S. mutans* in Todd Hewitt broth with and without 5% sucrose was inhibited by 2.5% crude IgY, and as the concentration of crude IgY increased from 2.5% to 17.5%, the pH drop of the media after incubation continued to decrease. There were high positive correlations between the concentration of crude IgY and the pH of media in the late incubation period. The inhibition rate of demineralization of primary tooth enamel by *S. mutans* was determined by measuring the surface microhardness after incubation in 5% sucrose Todd Hewitt broth for 12 hours. The inhibition rate was 32.28% in 2.5% IgY, 42.28% in 7.5% IgY, 64.06% in 12.5% IgY, and 92.79% in 17.5% IgY. There was high positive correlation between the concentration of crude IgY and the surface microhardness of enamel after demineralization. These results suggest that it would be possible to prevent dental caries through passive immunization using crude IgY.

Key words : IgY, *Streptococcus mutans*, Dental caries, Passive immunization