

## 근관감염균에 대한 polyphosphate의 항균효과

신정희 · 박상진 · 최기운\*

경희대학교 대학원 치의학과 치과보존학교실

## ABSTRACT

ANTIBACTERIAL EFFECT OF POLYPHOSPHATE ON  
ENDODONTOPATHIC BACTERIA

Jeong-Hee Shin, Sang-Jin Park, Gi-Woon Choi\*

Department of Conservative Dentistry, Division of Dentistry, Graduate School of Kyung Hee University

This study was performed to observe the antibacterial effect of polyphosphate (polyP) with various chain lengths (P3~P75) on virulent, invasive strains of *P. gingivalis* A7A1 28 and W50, and multidrug resistant *E. faecalis* ATCC29212. *P. gingivalis* strains were grown in brain heart infusion broth (BHI) containing hemin and vitamin K with or without polyP. PolyP was added at the very beginning of the culture or during the exponential growth phase of the culture. Inhibition of the growth of *P. gingivalis* was determined by measuring the absorbancy at 540nm of the grown cells. Viable cell counts of the culture and release of intracellular nucleotide from *P. gingivalis* were measured. *E. faecalis* was grown in plain BHI with antibiotics alone or in combination with polyP(calgon: 0.1~1.0%) and the bacterial absorbancy was measured.

The overall results suggest that polyP has a strong antibacterial effect on the growth of the virulent strains of *P. gingivalis* and the antibacterial activity of polyP seems largely bactericidal, accompanying bacteriolysis in which chelation phenomenon is not involved. Although polyP does not exert antibacterial activity against *E. faecalis*, it appears to increase antibacterial effect of erythromycin and tetracycline on the bacterium. Therefore, polyP alone or in combination with antibiotics may be developed as a candidate for the agent controlling oral infections including endodontic infection.

**Key words** : Endodontopathic bacteria, Polyphosphate, Antibacterial effect, *P. gingivalis*, *E. faecalis*, Calgon

## I. 서 론

치아는 구강환경 속에서 물리, 화학, 미생물적 자극에 끊임없이 노출되어 있다. 치수는 치아 경조직에 둘러싸여 세균의 침입으로부터 보호받을 수 있어 대개의 경우 무균상태로 존재한다. 그러나 치아가 외상을 받거나 충치 또는 치주질환이 진행된 경우 치수가 세균에 노출되어 치수염이 유발될 수 있고, 치수염의 원인요인인 세균에 의해 치수가 괴사될 수 있다. 괴사된 치수는 세균의 감염 및 증식이 더욱 용이하며 근관 내에 세균이 잔존하는 한 근관감염은 치근단 병소로 발전된다<sup>1)</sup>.

1890년 Miller<sup>2)</sup>가 괴사된 치수조직 내에 세균이 존재한다고 발표한 이래 치수질환에서 세균의 중요성이 인식되기 시작하였다. 그 후 1919년 Henrici와 Hartzell<sup>3)</sup>은 근관치료시 조직의 감염을 예방하고 존재하는 감염세균을 제거하는 것이 중요하다는 것을 강조함으로써 현대적 개념의 근관치료 목적을 제시하였다.

근관감염은 감염진행 경과에 따라 일정한 세균분포 양상을 보이고 있다. 감염 초기에는 통성 streptococci가 주로 나타나고, 치수괴사와 함께 근관이 혐기적인 환경으로 변해갈 때 혐기성 세균이 크게 증가하여 전체 배양분리세균 중 70~95%를 차지하게 된다<sup>4) 6)</sup>. 진행된 감염근관에서 발견

되는 세균의 종류는 극히 제한되어 있는데 이들 혐기성 세균의 대부분은 흑색의 집락을 형성하는 소위 "black pigmented anaerobic rods(흑색집락형성 혐기간균)"이다. 이 중에서도 *Porphyromonas*와 *Prevotella*속(genus)에 속하는 세균이 주로 나타나며, 특히 *Porphyromonas gingivalis*(이하 *P. gingivalis*)가 근관감염과 치근단 병소와 관련하여 나타나는 주요 세균종의 하나라고 알려져 있다<sup>4,6,9</sup>.

*P. gingivalis*는 원래 치주염에서 분리, 동정되었고 치주염과 관련하여 많이 연구되어 왔다. 최근 Rupf 등<sup>9</sup>은 치주질환에서 발견되는 중요한 원인세균들이 근관감염에서도 나타난다고 보고하였으며, Rocas 등<sup>10</sup>도 종종 치주염에서 많이 관찰되는 세균군인 "red complex"에 속하는 *P. gingivalis*가 감염근관에서도 관찰되었다고 보고하였다. 즉 *P. gingivalis*는 치주질환 뿐만 아니라 근관감염의 발병기전에도 중요한 역할을 하는 것으로 추측됨으로써 구강감염 질환에서 *P. gingivalis*의 중요성이 더욱 커지고 있다.

*P. gingivalis*의 근관 내 출현은 임상적 증상과 관련하여 중요한 의미를 갖는다. Sundqvist<sup>11</sup>은 흑색집락형성 혐기간균은 동통을 동반하는 근관감염과 관련성이 있다고 최초로 보고한 이후 많은 연구들을 통해 *P. gingivalis*는 근관감염과 치근단 치주염의 동통과 깊은 관련성이 있음이 입증되었다<sup>4,7,12,13</sup>. 또한 *P. gingivalis*는 급성감염과도 관련하여 나타나는 것으로 알려지고 있다<sup>4,7,14</sup>. 이 같은 *P. gingivalis*가 근관감염에서 갖는 중요성과 임상증상과의 관련성은 다른 어떤 구강세균보다도 많은 종류의 독력인자들(virulence factors)을 갖고 있기 때문이고<sup>15,16</sup> 그 중에서도 효소의 광범위한 분해능력은 이 세균의 강력한 병원성을 반영하고 있다<sup>7</sup>. 즉, *P. gingivalis*는 일반 구강세균에서 볼 수 없는 다양한 가수분해효소를 생산하며 이들 분해효소의 단독 또는 복합작용으로 알려진 모든 세포간질단백질, 조직내 기질(matrix)단백질 및 혈장단백질<sup>15,16,18</sup> 그리고 인체의 방어기전 단백질인 immunoglobulins와 보체<sup>15,16,18,20</sup>, 이들 방어기전 단백질을 감지하기 위한 탐식세포의 수용기<sup>21,22</sup> 등을 분해시킬 수 있는 능력이 있는 것으로 보고되고 있다<sup>16</sup>. 이와 같이 *P. gingivalis*는 구강조직의 직접적인 파괴 및 조직의 면역기능 저하를 유도하는 작용뿐만 아니라 조직세포와 반응할 경우 조직세포에서 유리되는 물질이 이차적으로<sup>23,24</sup> 광범위한 조직파괴를 동반할 수 있다.

*P. gingivalis* 균주들은 물리, 생화학적, 혈청학적, 유전적으로 다양한 성상을 가지고 있다<sup>25,26</sup>. *P. gingivalis* 균주 2561이나 381를 mice의 등에 피하주사로 주입하면 주사부위에만 농양을 형성하지만, A7A1 28(ATCC 53977)이나 W50(ATCC 53978)은 같은 부위에 주입하면 복부로 이동하여 농양을 형성하고 mice를 죽일 수도 있는 것으로 보고되었다. 이로 인해 2561, 381은 전신적으로 미치는 영향력 측면에서 비독성, 비침투성 균주로, 반면 A7A1 28,

W50 균주는 독성, 침투성 균주로 분류되고 있다. Genco 등<sup>27</sup>도 피하 chamber model을 이용하여 관찰한 mice에서도 W50이 ATTIC 33277보다 광범위한 농양성, 괴사성, 궤양성 병소를 유발하고, mice를 치사시킬 수도 있는 능력이 있음을 보고하였다. 그러나 국소적으로 관찰했을 때 rat에서는 381이나 A7A1 28 모두 광범위한 치주조직의 파괴를 유도하는 것으로 나타났다<sup>28</sup>. 그러나 381은 수직적 치조골 파괴를, A7A1 28은 수평적 치조골 파괴를 유도하였다. *P. gingivalis*의 조직파괴는 rat보다 mice에서 더 크게 나타나는 것으로 보이는데<sup>29</sup> mice에서 *P. gingivalis* 균주의 독성능력은 A7A1 28, W50, 2561, 381의 순으로 나타나고 있다<sup>30</sup>. 최근 specific pathogen free mice에서 381은 치조골 파괴를 유도하지 않았으나 A7A1 28과 W50은 치조골 파괴를 유도하는 것으로 관찰되었다<sup>31</sup>. Amano 등<sup>32</sup>은 일본인 종종 치주염환자에서 *P. gingivalis*의 유전형 분포를 조사한 결과 A7A1 28이 속해있는 제 II유전형이 가장 우세하게 나타나고 다음이 W50이 속해있는 제 IV유전형, 그리고 가장 적은 비율을 보이는 것은 381, 2561이 속한 제 I유전형으로 밝혀졌다. 따라서 A7A1 28, W50은 상대적으로 전신적, 국소적인 독성이 강하게 표현될 수 있는 균주로 생각된다. 근관감염과 치주염이 상호 관련되어 있다는 것이 밝혀진 현 시점에서 이들 독성 균주를 억제할 수 있는 방법을 강구하는 것이 시급한 것으로 생각된다.

근관치료의 성공여부는 미생물의 제거뿐만 아니라 재감염을 방지할 수 있는지의 여부에 달려있다. 근관치료가 끝난 치아의 치근단 병소의 형성은 세균의 출현을 동반하고 있다. 이들 실패한 근관치료치아에는 주로 Gram음성세균이 1개 또는 2개 종류가 나타나고 그 중에서도 *Enterococcus faecalis*(이하 *E. faecalis*)가 가장 많이 발견되고 있다<sup>32,33</sup>. *E. faecalis*는 영양이 풍부하나 산소가 결핍된 생태적으로 복잡한 위장관에 적응하며 소수가 서식하고 있다. 그러나 *E. faecalis*는 요도, 혈액, 심장내막, 복부, 담관, 화상부위에서 기회감염 또는 원내감염을 유발할 수 있다<sup>34,35</sup>. *E. faecalis*는 일반적으로 위장관으로 거처가는 과정에서 구강에 일시적으로 나타나지만 면역능력이 떨어진 환자의 경우 점막감염<sup>36</sup>, 치주염에서는 균교대감염<sup>37</sup>의 결과로 나타날 수 있다. *E. faecalis*는 *E. faecium*과 더불어 다양한 항생제에 대한 내성을 갖고 있어 치치가 어려운 세균으로 알려져 있다. 일반적으로 penicillin, ampicillin, clindamycin, metronidazole, tetracycline에 저항하고, erythromycin, vancomycin에는 감수적이다<sup>38</sup>. 그러나 다중항생제 내성인 세균에 사용되는 vancomycin에 내성을 갖는 *E. faecalis*가 출현하고 있고<sup>39</sup> 실제 생태계에서 biofilm을 형성하고 있을 때 더욱 항생제에 저항하기 때문에<sup>40</sup> *E. faecalis*의 감염이 발생하면 치료가 어려워진다.

근관내 세균을 제거하기 위해서는 근관형성, 근관세척 그

리고 근관내 침약을 사용한다. *E. faecalis*를 제거하기 위한 실험관 실험에서 NaOCl과 chlorohexidine으로 세척시 효과적으로 제거되며 농도에 따라 효과가 차이가 있다<sup>41</sup>. 그리고 chlorohexidine gel과 chlorohexidine과 Ca(OH)<sub>2</sub>를 혼합하여 근관내 침약으로 사용시 효과적으로 제거할 수 있다<sup>42</sup>. 그러나 *E. faecalis*는 다른 세균과 달리 상아세관내로 침입이 혈청에 의해 억제되지 않고 collagen에 대한 부착력이 증가함으로 상아세관내로 침입하는 것이 더욱 용이해지고<sup>43</sup> 빠른 시간 내에 깊이 침투할 수 있다<sup>44</sup>. Ca(OH)<sub>2</sub>를 적용했을 경우 *E. faecalis*가 상아질내에 있으면 *E. faecalis*에 항균효과를 발휘하지 못하고 오히려 상아질에 의해 Ca(OH)<sub>2</sub>의 효과가 상실되는 것으로 밝혀지고 있다<sup>45</sup>. 이와 같은 이유 때문에 Ca(OH)<sub>2</sub>로 근관을 임시충전하여도 오랫동안 적용하지 않는 한 효과가 없고<sup>46</sup> *E. faecalis*는 제거되지 않고 생존하여 지속적으로 남아있을 수 있다<sup>38,44</sup>.

치료기간이 길 경우 또는 입시가봉을 하지 않을 경우 근관이 감염될 가능성이 높아 *E. faecalis*에 감염될 수 있다<sup>47</sup>. *E. faecalis*는 상아세관내에 장기간 생존하기 때문에 근관충전재의 항균작용이 강조되고 있다. 실험관내 실험에서 근관충전재의 *E. faecalis*에 대한 항균효과는 Ca(OH)<sub>2</sub>와 ZOE 계열의 근관충전제가 hexamethylenetetramine이 첨가된 resin 계열의 AH26보다 효과가 있다<sup>48</sup>. 그리고 ZOE 계열의 근관충전제는 Ca(OH)<sub>2</sub> 계열의 근관충전제보다 단기간에는 항균효과가 있으나 7일 이상인 경우 항균효과가 떨어진다<sup>49</sup>. 그러나 glass ionomer cement 제제는 ZOE 제제의 근관충전제보다 단기간에는 항균효과가 강력하나 ZOE 계열의 근관충전제가 더 오래 지속된다<sup>50</sup>. 실험관내 실험에서는 Ca(OH)<sub>2</sub> 계열의 근관충전제가 충전 후 오랜 시간이 지났을 때도 항균효과가 나타날 수 있으나 실제 근관에서는 근관세척용액처럼 상아세관내에서 상아질에 의해 항균효과가 상실될 수 있고 OH기가 감염된 상아질내로 확산되어 들어가지 못하기 때문에 실제로는 항균효과가 발휘되지 못할 가능성도 있다<sup>45</sup>. 그러나 Ca(OH)<sub>2</sub> 계열의 근관충전제는 전반적으로 항균효과가 다른 계열의 근관충전제에 비해 떨어진다<sup>51</sup>. 반대로 항균효과가 높은 근관충전제의 경우 상대적으로 조직에 대한 자극을 심화시키는 단점이 있다<sup>52</sup>. 따라서 자극이 없으면서 근관충전제의 항균효과를 높일 수 있는 제제의 개발이 시급히 이루어져야 한다.

*P. gingivalis* 균주는 tetracycline계 항생제에 감수성이 있는 것으로 알려져 있으나<sup>53</sup> 실제 임상에서 분리되고 있는 *P. gingivalis*의 대부분은 tetracycline에 대한 내성유전자를 갖고 있는 것으로 보고되고 있다<sup>54</sup>. *E. faecalis*는 앞서 언급한 것과 같이 대부분의 항생제에 대해 내성을 갖고 있기 때문에 근관감염의 예방, 치료, 근관치료 후 재감염 방지를 위해 항생제를 사용하는 것이 무의미할 수 있고, 설사 효과가 있다하더라도 장기간 사용하기는 임상적으로 어렵다.

따라서 안전하고 장기간 사용하더라도 부작용이나 내성이 없는 항균약물의 개발이 필요하다.

Polyphosphate(polyP)는 수십 또는 수백의 orthophosphate(Pi)가 고에너지의 phosphoanhydride 결합으로 연결된 인중합체이다<sup>55</sup>. 여러 세균 내에 발견되는 polyP는 에너지 저장소로서, 에너지 대사과정에서 인산의 공급, 그리고 이들 세균이 여러 가지 영양 및 환경적인 stress를 견디는 것과 같은 기본 생존활동을 위해 중요한 역할을 한다<sup>56</sup>. PolyP는 여러 가지 목적을 위해 식품 특히 육류, 유가공 제품에 첨가하는 미 농무성이 인정된 인체에 무해한 식품첨가물로서<sup>57</sup> 수분 및 신선도 유지, 악취 및 변색의 방지, 연화를 목적으로 사용되고 있다<sup>58</sup>. PolyP는 *Staphylococcus aureus*<sup>59</sup>와 *Listeria monocytogenes*<sup>60</sup> 같은 식중독균에 항균효과가 있는 것으로 알려져 있다. 또한 polyP는 *mutans streptococci*에 의한 치태형성을 억제하고<sup>61</sup> 충치를 억제하는 것으로 알려지고 있다<sup>62</sup>. 최근에는 근관과 치주의 감염균인 *Prevotella intermedia*<sup>63</sup>, 그리고 *P. gingivalis* 균주 중 비독성, 비침투성 균주인 2561<sup>63</sup>에 대해서도 polyP가 강한 항균효과를 발휘한다는 것이 밝혀졌다.

본 연구에서 치주질환에서처럼 근관감염 시에도 많이 출현할 것으로 예상되는 독성이 강하고, 침투성 균주인 *P. gingivalis* A7A1 28과 W50, 그리고 항생제, 근관세척제 등 여러 가지 약물에 내성을 나타내는 *E. faecalis*에 대한 polyP의 항균효과를 관찰하였다.

## II. 실험재료 및 방법

### 1. 실험재료

#### 1) 실험균주

실험에 사용할 실험 균주로 *P. gingivalis* A7A1 28과 W50, *E. faecalis* ATCC 29212를 선택하였다. 냉동보관 중인 *P. gingivalis* 균주는 yeast extract(5 mg/ml), hemin(5 µg/ml)과 vitamin K(0.2 µg/ml)이 첨가된 half strength(18.5 mg/ml) brain heart infusion(BHI; Difco) 액체배지에 혐기적(80% N<sub>2</sub>, 10% H<sub>2</sub>, 10% CO<sub>2</sub>)으로 배양하였다. *E. faecalis*는 American Type Culture Collection(ATCC)에서 주문하였으며 일반 BHI 액체배지에 혐기적으로 배양하였다<sup>63</sup>.

#### 2) 실험재료

사슬길이 P3, P5, P15, P25, P35, P45, P65, P75의 sodium polyphosphate(glassy; Sigma, USA)와 Calgon(P13~P18; Sigma, USA), 그리고 대조균으로 orthophosphate(Pi; Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>), pyrophosphate(PPi; Na<sub>2</sub>P<sub>2</sub>O<sub>7</sub>)를 사용하였다.

항생제로는 ampicillin, erythromycin, gentamicin, kanamycin, penicillin G, tetracycline(이상 Sigma, USA), 그리고 cefotaxime(American Pharmaceutical Partners, Inc.)을 사용하였다.

## 2. 실험방법

### 1) *P. gingivalis*에 대한 polyP의 항균효과 관찰

#### ① PolyP의 *P. gingivalis* 성장억제실험

BHI 액체배지에 36~48시간 혐기배양한 *P. gingivalis* 200 $\mu$ l를 새로운 10ml BHI 액체배지에 접종한 후 Pi, PPi 또는 다양한 사슬길이의 polyP(0.03~0.07%)를 첨가하여 함께 48시간 동안 혐기적으로 배양한 다음 *P. gingivalis*의 성장상태를 분광광도계(540nm)상에서 흡광도로 측정하였다<sup>63)</sup>.

한편, 10ml BHI 액체배지에 *P. gingivalis*를 접종하여 polyP 없이 흡광도 0.4~0.6까지 일단 배양한 다음, polyP75를 0.03~0.07%씩 각각 첨가하여 시간별로 세균 성장억제 효과를 흡광도를 측정하여 관찰하였다.

PolyP의 *P. gingivalis*에 대한 항균효과가 정균작용에 의한 것인지 또는 살균작용에 의한 것인지 확인하기 위해 생균수를 측정하였다. 즉, *P. gingivalis*를 10 ml BHI 액체배지에 접종하여 흡광도 0.4~0.6까지 증식 후, 여기에 다시 polyP75를 0.03~0.07%를 첨가한 다음 추가로 6, 12, 24 시간 배양하였다. 배양한 *P. gingivalis*를 인산완충 생리식염수(PBS, pH 7.0)로 단계희석( $10^{-1}$ ~ $10^{-6}$ )한 후 5% 면양적혈구가 첨가된 혈액한천배지에 희석균액 100 $\mu$ l를 적하하여 glass bead와 함께 흔들어 배지위에 균일하게 도말하였다. 도말 후 혈액한천 배지를 혐기적으로 5일간 배양하여 나타난 집락수를 측정하여 생균수를 계산하였다.

#### ② PolyP의 *P. gingivalis* 핵산유리

PolyP의 *P. gingivalis*에 대한 항균효과가 다른 Gram 양성세균에서처럼 양이온과의 chelation에 의한 세균막 파괴 현상 때문인지를 관찰하기 위해, 첫째로 0.15M NaCl용액(생리식염수)을 준비한 다음 이 용액에 polyP를 최종농도가 0.06%, EDTA는 3.4 mM이 되도록 용해시킨 후 pH를 6.0과 8.0로 조정 후 filter 멸균하였다. 한편 EGTA도 3.4 mM이 되도록 용해한 후 pH 8.0로 조정 후 다음 filter 멸균하였다. 한편 10ml BHI 액체배지에 접종하여 540 nm에서 흡광도 0.6까지 배양한 후 세정한 *P. gingivalis* 균 pellet을 10ml의 멸균 생리식염수나 polyP 또는 EDTA가 포함된 생리식염수에 부유시켜 일정시간 동안 배양한 다음 10,000 $\times$ g로 원심한 후 상청액의 흡광도를 260nm에서 측정하여 유리된 핵산량을 비교하였다. 한편 polyP 용액에

0.4M과 0.6M NaCl를 첨가한 후 유리된 핵산량의 차이를 관찰하였다. 또한 만약 chelation에 의해 세포파괴가 이루어졌을 경우 어떤 양이온과 chelation이 이루어졌는가를 살펴보기 위해 세균세포의 구조유지에 필수적 이온인  $Ca^{++}$  ( $CaCl_2$ )과  $Mg^{++}$  ( $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ )을 최종농도가 10mM 되게 각각 첨가한 상태에서 핵산 유리가 억제되는지를 관찰하였다<sup>63)</sup>.

### 2) *E. faecalis*에 대한 polyP의 항균효과 관찰

#### ① PolyP의 *E. faecalis* 성장억제실험

위에서와 같이 BHI 액체배지에 혐기배양한 *E. faecalis* 200 $\mu$ l를 새로운 10ml BHI 액체배지에 접종한 후 Calgon(0, 0.1~1%)을 첨가하여 24시간동안 혐기적으로 배양한 다음 *E. faecalis*의 성장상태를 흡광도로 측정하였다.

#### ② *E. faecalis*에 대한 polyP의 permeabilizer 활성

PolyP가 항생제에 대한 *E. faecalis*의 감수성을 높일 수 있는 permeabilizer의 역할을 할 수 있는지를 관찰하였다<sup>64)</sup>. BHI 배지에서 12시간 배양한 *E. faecalis* 균액 50 $\mu$ l를 새 BHI 배지 5ml에 접종한 후 Calgon(0, 0.1~1%)과 항생제(ampicillin, cefotaxime, erythromycin, gentamicin, kanamycin, tetracycline, penicillin G)를 함께 첨가하여 6시간 후 *E. faecalis*의 성장상태를 540nm에서 흡광도를 측정하였다.

## III. 실험성적

### 1. *P. gingivalis*에 대한 polyP의 항균효과

#### 1) PolyP의 *P. gingivalis* 성장억제 효과

*P. gingivalis* A7A1 28 접종 시에 polyP를 첨가하고 함께 24시간 배양하고 흡광도를 측정된 결과 polyP를 0.05% 첨가했을 때 A7A1 28의 성장이 거의 억제되었고 특히 사슬길이가 긴 polyP를 첨가했을 때는 이미 초기접종시 수준(흡광도 0.010)에 거의 가까울 정도로 A7A1 28의 성장을 억제하였다. PolyP를 0.07% 첨가하였을 때는 초기접종 수준 또는 그 이하로 균성장이 억제되었다. 사슬길이 3인 polyP로부터 긴 사슬길이의 polyP 모두 항균효과가 나타났으며 사슬길이에 따른 항균효과의 차이는 뚜렷하지 않았다. 반면 대조군으로 사용된 Pi, PPi는 항균효과가 관찰되지 않았다(Fig. 1).

*P. gingivalis* W50을 접종하고 polyP를 함께 첨가하고 24시간 배양했을 때 A7A1 28과 마찬가지로 Pi, PPi는 항균효과를 발휘하지 않았다. PolyP가 0.05% 첨가되었을 때

부터 뚜렷한 성장억제가 관찰되었으며 일부 polyP는 초기 접종 수준으로까지 W50의 성장을 억제할 수 있는 것으로 나타났다. (Fig. 2)

2) 증식된 *P. gingivalis*에 대한 polyP75의 성장억제 효과

사용된 polyP 중에서 이전 *P. gingivalis* 2561균주에 대한 polyP의 항균효과 연구<sup>63)</sup>에서 사용되어 본 실험결과와 직접적인 비교가 가능한 polyP75를 선택하여 사용하였다.

*P. gingivalis*를 polyP75없이 대수증식기까지 배양하여 흡광도가 0.4~0.6에 이를 때까지 *P. gingivalis*의 수를 충분히 증가시킨 다음에 위에서 측정된 성장억제농도의 polyP75를 첨가했을 때도 여전히 *P. gingivalis*의 성장을 억제할 수 있는지 관찰하였다.

대수증식기의 *P. gingivalis* A7A1 28에 polyP75를 첨

가하고 추가배양했을 때 0.04%에서는 polyP75 없이 추가 배양했을 때처럼, 성장이 지속적으로 증가하였다. 그러나 0.05%부터는 polyP75를 첨가하기 전의 흡광도(0.578)를 12시간까지 유지하다가 18시간 후에 0.674로 약간 증가하였다. 그러나 0.06% 첨가하였을 때 6시간부터 원래 흡광도보다 감소하기 시작하여 18시간 후에는 0.405로 약 30% 감소하였다(Fig. 3).

대수증식기의 *P. gingivalis* W50에 polyP75를 첨가하고 6~18시간 추가배양했을 때 0.03%에서는 초기 흡광도(0.475)보다 약간 증가하였으나(0.768) 0.05%를 첨가했을 때 6, 12시간 후에는 거의 비슷한 흡광도, 18시간에는 0.452로 약 5% 감소하였다. 0.07% 첨가 시에는 0.05% 첨가 시보다 흡광도가 조금 더 감소하였으나 큰 차이는 없었고 18시간에 흡광도 0.411로 초기흡광도보다 약 13% 감소하였다(Fig. 4).

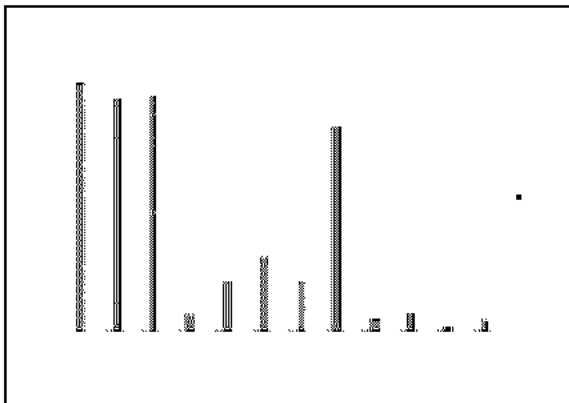


Fig. 1. Inhibitory effect of polyP with various chain lengths(P3~P75) on the growth of *P. gingivalis* A7A1-28

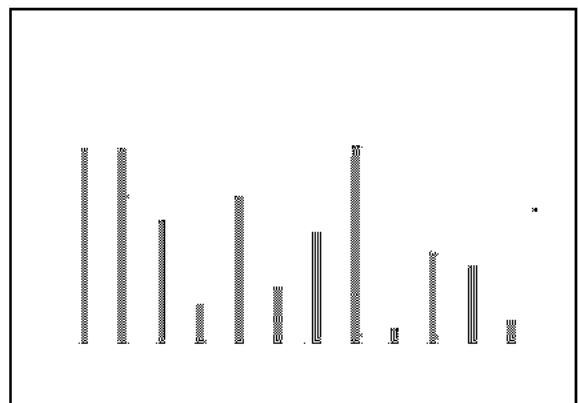


Fig. 2. Inhibitory effect of polyP with various chain lengths(P3~P75) on the growth of *P. gingivalis* W50

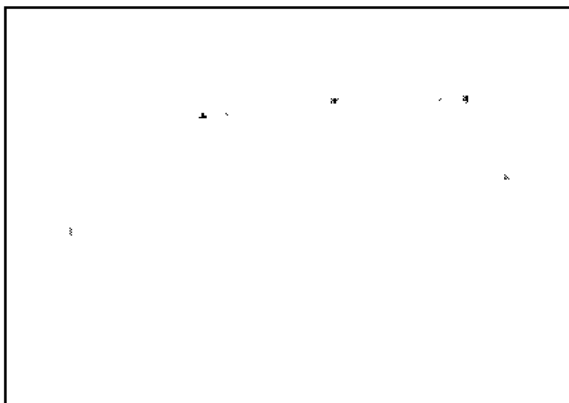


Fig. 3. A change in the growth of *P. gingivalis* A7A1-28 with polyP75 added in the early exponential phase

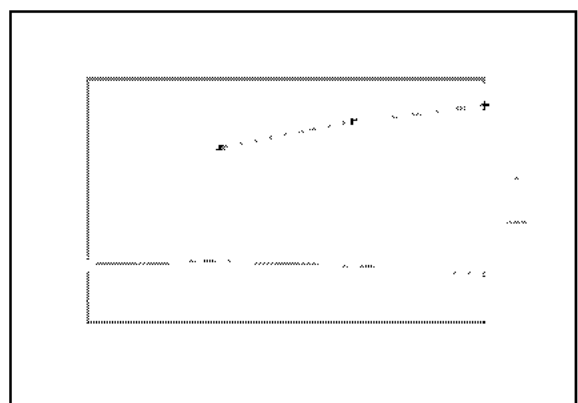


Fig. 4. A change in the growth of *P. gingivalis* W50 with polyP75 added in the early exponential phase

3) PolyP의 살균 효과

위에서와 같이 대수증식기까지 증식시킨 *P. gingivalis*를 polyP75와 함께 6, 12, 18시간동안 BHI 한천배지에 배양하고 나서 형성된 집락으로 생균수를 측정하여 polyP75의 살균작용 유무를 관찰하였다.

*P. gingivalis* A7A1 28은 polyP75가 첨가되었을 때 0.04%에서는 polyP75없이 추가배양했을 때처럼 성장이 계속 증가하여 추가배양 시작 때의 생균수보다 약  $2.2 \times 10^8$  배 증가하였다. 그러나 polyP75를 0.05% 첨가하고 추가배양시 12시간 까지는 A7A1 28의 성장이 증가하였으나 18시간에 생균수가 초기 생균수의 66.1%로 생존율이 33.9% 감소하였다. PolyP75를 0.06% 첨가하고 추가배양시 생균수가 크게 감소하여 6, 12, 18시간에 초기 생균수의 각각 10.1, 3.8, 1.9%로 나타나 18시간 때 최종적으로 생존율

이 98.1% 감소하였다(Fig. 5)

*P. gingivalis* W50은 polyP75를 0.07% 첨가하고 추가 배양했을 때 6시간 후생균수가 첨가 전보다 4.5배 증가하였으나, 12시간 후부터는 생균수가 크게 감소하여 12, 18시간에 초기 생균수의 각각 1.3, 0.01%로 나타나 18시간 때 최종적으로 생존율이 99.99% 감소하였다(Fig. 6).

4) PolyP의 chelation 효과

세정한 *P. gingivalis* A7A1 28을 polyP75와 함께 배양시 유리되는 핵산양이 50% 증가하였고, 이 양은 양성 대조로 사용한 EDTA에 의해 유리되는 양 보다 큰 것으로 나타났다. 여기에  $Mg^{++}$ ,  $Ca^{++}$  이온이 함께 첨가된 경우는 음성 대조군과 비슷한 정도로 핵산유리가 억제되었다 (Table 1).

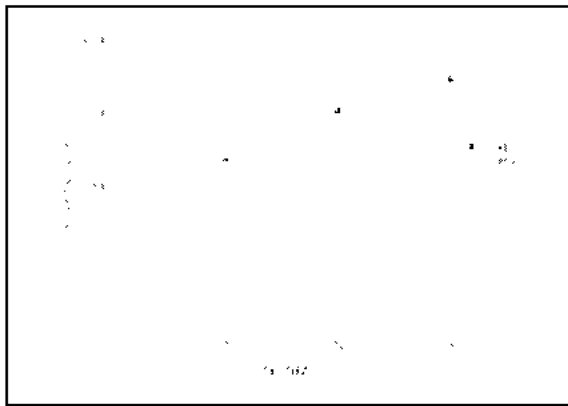


Fig. 5. The viable cell counts of *P. gingivalis* A7A1-28 in the presence of polyP75

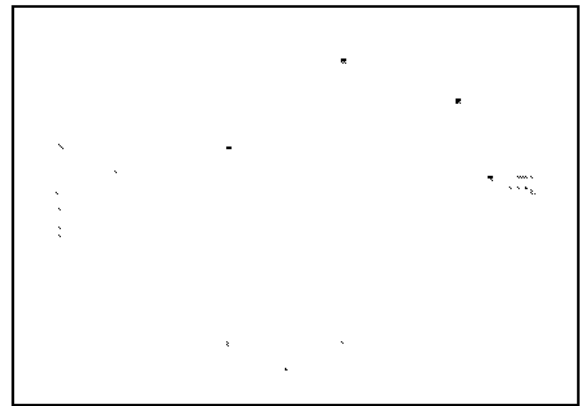


Fig. 6. The viable cell counts *P. gingivalis* W50 in the presence of polyP75

Table 1. Leakage of intracellular nucleotide from *P. gingivalis* A7A1-28 in the presence of polyP75\*

Incubation time(h)	None	3.4 mM EGTA(pH8.0)	3.4 mM EDTA		0.06% polyP75 with :				
			pH 6.0	pH 8.0	None	0.4 M NaCl	0.6 M NaCl	10 mM CaCl <sub>2</sub>	10 mM MgCl <sub>2</sub>
1	0.076	0.151	0.125	0.181	0.101	0.103	0.148	0.092	0.093
2	0.081	0.161	0.131	0.193	0.113	0.111	0.152	0.113	0.122
3	0.112	0.167	0.142	0.195	0.163	0.166	0.213	0.123	0.132
4	0.121	0.192	0.162	0.213	0.163	0.173	0.231	0.128	0.147
5	0.157	0.231	0.236	0.28	0.291	0.259	0.255	0.127	0.172

\* : Cells grown up to their optical density of 0.6 at 540 nm were further incubated with various reagents alone or in combination and then intracellular nucleotide release from the cells was determined by measuring the absorbance at 260 nm.

**Table 2.** Leakage of intracellular nucleotide from *P. gingivalis* W50 in the presence of polyP75\*

Incubation time(h)	None	3.4 mM EGTA(pH8.0)	3.4 mM EDTA		0.07% polyP75 with :				
			pH 6.0	pH 8.0	None	0.4 M NaCl	0.6 M NaCl	10 mM CaCl <sub>2</sub>	10 mM MgCl <sub>2</sub>
1	0.083	0.114	0.054	0.062	0.097	0.088	0.091	0.045	0.072
2	0.101	0.128	0.093	0.099	0.113	0.099	0.093	0.123	0.095
3	0.132	0.130	0.101	0.158	0.127	0.104	0.121	0.131	0.100
4	0.138	0.143	0.118	0.161	0.155	0.109	0.140	0.132	0.112
5	0.142	0.168	0.135	0.181	0.176	0.124	0.146	0.139	0.118

\* : Cells grown up to their optical density of 0.6 at 540 nm were further incubated with various reagents alone or in combination and then intracellular nucleotide release from the cells was determined by measuring the absorbance at 260 nm.

**Table 3.** Effect of polyP (Calgon) on the growth of *E. faecalis* ATCC 29212\*

PolyP (%)	Optical density at 540 nm
0	1.523 (100%)
0.1	1.496 (98%)
0.2	1.445 (95%)
0.3	1.391 (91%)
0.4	1.356 (89%)
0.5	1.334 (88%)
1	1.412 (93%)

\* : Calgon at the concentrations of 0.1~1.0% was added to an inoculum of *E. faecalis* in BHI at the very beginning of the culture and incubated for 12 h anaerobically. Change in the growth of the bacterial cells was determined by measuring the optical density at 540 nm.

세정한 *P. gingivalis* W50을 polyP75와 함께 배양시 유리되는 핵산양이 24% 증가하였고, 이 양은 양성 대조로 사용한 EDTA에 의해 유리되는 양과 비슷하거나 낮은 것으로 나타났다. 여기에 Mg<sup>++</sup>, Ca<sup>++</sup> 이온이 함께 첨가된 경우는 음성 대조군과 비슷한 정도로 핵산이 유리되었다(Table 2).

## 2. *E. faecalis*에 대한 polyP의 항균효과

### 1) PolyP의 *E. faecalis* 성장억제 효과

*E. faecalis*를 접종하고 Calgon을 0, 0.1~1%까지 첨가

하여 12시간 배양한 후 *E. faecalis*의 성장변화를 흡광도로 관찰하였다. 그러나 *E. faecalis*는 Calgon에 의해 거의 억제되지 않았다. Calgon을 0.5%까지 첨가시 Calgon없이 배양했을 때에 비해 88%로 12%의 성장 감소를 나타내었다. Calgon을 1%까지 첨가시 오히려 성장감소가 둔화되어 7%의 감소만 나타났다 (Table 3).

### 2) *E. faecalis*에 대한 polyP의 permeabilizer 활성

위의 실험에서 *E. faecalis*에 대한 polyP의 항균효과가 거의 나타나지 않았기 때문에 다른 세균에서 관찰된 것과 같이 항생제의 효과를 향상시키는 permeabilizer로서의 활성<sup>64)</sup>이 *E. faecalis*에 대해서도 나타나는지 관찰하였다.

Calgon이 첨가되었을 때 항생제 ampicillin (0.5 $\mu$ g/ml), gentamicin(1.75 $\mu$ g/ml), kanamycin(1.5 $\mu$ g/ml)의 항균효과에 영향을 미치지 않았다. 반면 cefotaxime(0.2  $\mu$ g/ml)의 경우 Calgon이 첨가되었을 때 0.3%까지는 *E. faecalis*의 성장이 크게 억제되어 cefotaxime 단독 사용 시보다 78%의 성장감소가 나타났다. 그러나 Calgon의 농도가 높아질수록 다시 *E. faecalis*의 성장이 커져서 1%에서는 polyP가 없이 cefotaxime만 있을 때 관찰한 성장 정도의 89%수준으로까지 회복되었다. Erythromycin(0.05  $\mu$ g/ml)의 경우도 단독보다는 Calgon과 같이 첨가되었을 때 Calgon의 농도 0.3%까지는 *E. faecalis*의 성장이 89%정도로 크게 억제되었으나 0.5%까지는 변화가 없다가 1% Calgon이 있을 때는 erythromycin 단독 시와 비슷한 수준으로 성장이 회복되었다. 또한 penicillin G와 tetracycline은 Calgon이 함께 첨가되었을 때 penicillin G의 경우 Calgon 0.4%부터, tetracycline은 0.1%부터 계속해서 성장이 크게 감소하여 이들 항생제 단독 첨가시

보다 최종적으로 각각 약 90, 94%의 성장 억제 효과를 나타냈다(Table 4).

항생제의 양을 2배로 늘려 첨가하고 배양시 우선 *E. faecalis*에 대한 항생제만의 효과를 봤을 때 gentamicin, kanamycin, tetracycline은 첨가량이 2배 증가했어도 항균효과는 변하지 않았다. 반면 ampicillin, penicillin G는 단독 첨가량을 2배로 늘렸을 겨우 항균효과가 크게 증가하는 것으로 나타났다. 한편, 여기에 Calgon이 첨가되었을 때 여전히 gentamicin, kanamycin의 항균효과에는 영향을 미치지 않았다. Ampicillin은 오히려 Calgon이 함께 있을 때 항균효과가 감소하여 0.2%의 Calgon첨가 시 *E. faecalis*의 성장이 2.2배 증가하였다. 한편 cefotaxime(0.4 $\mu$ g/ml)의 경우 0.2 $\mu$ g/ml농도에서와 같이 Calgon이 함께 첨가 시 0.3%까지는 *E. faecalis*의 성장이 크게 억제되어 cefo-

taxime 단독 사용 시보다 77%의 성장감소가 나타났다. 그러나 Calgon의 농도가 높아질수록 다시 *E. faecalis*의 성장이 커져서 1%에서는 polyP가 없이 cefotaxime만 있을 때의 67%수준으로 회복되었다. 반면, 위에서와 마찬가지로 Calgon이 함께 첨가되었을 때 erythromycin은 최대 96%, penicillin G(1.0 $\mu$ g/ml)는 58%, tetracycline (2.5 $\mu$ g/ml)은 90%의 추가적인 성장억제효과를 나타냈다. 그러나 tetracycline (2.5 $\mu$ g/ml)의 경우는 1.25 $\mu$ g/ml만 첨가하고 Calgon과 함께 배양을 했을 때와 비교하면 저농도의 Calgon에서는 억제효과가 더 크게 나왔으나 Calgon이 고농도로 첨가되었을 경우(1.0%)는 같은 농도의 Calgon과 1.25 $\mu$ g/ml tetracycline이 함께 첨가되었을 경우와 비교하여 오히려 억제효과가 감소하였다(Table 5).

**Table 4.** Permeabilizing effect of polyP on sensitivity of *E. faecalis* to various antibiotics at lower concentrations as measured the bacterial optical density at 540 nm<sup>a</sup>

Polyp (%)	None	AP (0.5 $\mu$ g/ml)	CFX (0.2 $\mu$ g/ml)	EM (0.05 $\mu$ g/ml)	GM (1.75 $\mu$ g/ml)	KM (1.5 $\mu$ g/ml)	PN-G (0.5 $\mu$ g/ml)	TC (1.25 $\mu$ g/ml)
0	1.591	1.218	1.203	1.369	1.568	1.551	0.914	1.404
0.1	1.538	1.242	1.155	0.321	1.349	1.21	1.148	0.513
0.2	1.463	1.248	0.430	0.166	1.315	1.351	1.191	0.407
0.3	1.400	1.367	0.267	0.156	1.311	1.295	1.179	0.360
0.4	1.364	1.212	0.485	0.157	1.320	1.325	0.219	0.316
0.5	1.360	1.307	0.476	0.159	1.422	1.400	0.223	0.299
1.0	1.401	1.178	0.742	1.283	1.250	1.321	0.087	0.088

<sup>a</sup> : Antibiotics at lower concentrations with or without Calgon (0.1~1.0%) were added to the culture and incubated as described in Table 3. The optical density of growing *E. faecalis* cells was determined at 540 nm.

Abbreviation: AP, ampicillin; CFX, cefotaxime; EM, erythromycin; GM, gentamicin; KM, kanamycin; PN-G, penicillin-G; TC, tetracycline.

**Table 5.** Permeabilizing effect of polyP on sensitivity of *E. faecalis* to various antibiotics at higher concentrations as measured the bacterial optical density at 540 nm<sup>a</sup>

Polyp (%)	None	AP (1.0 $\mu$ g/ml)	CFX (0.4 $\mu$ g/ml)	EM (0.1 $\mu$ g/ml)	GM (3.5 $\mu$ g/ml)	KM (3.0 $\mu$ g/ml)	PN-G (1.0 $\mu$ g/ml)	TC (2.5 $\mu$ g/ml)
0	1.591	0.426	1.106	1.251	1.560	1.543	0.132	1.241
0.1	1.538	0.718	0.826	0.097	1.489	1.495	0.123	0.297
0.2	1.463	0.934	0.348	0.058	1.467	1.428	0.153	0.265
0.3	1.400	0.466	0.259	0.053	1.355	1.327	0.098	0.206
0.4	1.364	0.527	0.323	0.056	1.272	1.296	0.098	0.232
0.5	1.360	0.578	0.308	0.084	1.219	1.203	0.087	0.176
1	1.401	0.347	0.737	0.19	1.263	1.308	0.056	0.126

<sup>a</sup> : The experiment was performed as described in Table 4 except that the amount of antibiotics added was doubled.



#### IV. 총괄 및 고안

치수감염이 진행되어 치수괴사, 치근단 병소로 발전하게 되면 근관이나 치근단 병소에는 치주질환에서 관찰되는 것 같은 세균 분포의 특징이 뚜렷하게 나타나고 있다. 치주염의 심도가 깊어갈수록 주로 나타나는 세균군인 "red complex", 즉 *P. gingivalis*, *B. forsythus*, *T. denticola*<sup>65)</sup>는 근관감염에서도 단독 또는 함께 나타나고 있다<sup>4,10)</sup>. 이들 세균은 세균간 응집현상<sup>66)</sup>을 통해 물리적으로 함께 존재할 수 있으며, 성장에 필요한 영양분을 생산하여 상호 손쉽게 공급하려는<sup>67)</sup> 공생의 생태학적 이점을 이용하기 위한 것으로 보인다. 치주질환과 근관감염이 어떤 연관성을 갖고 있는지에 대해 향후 연구에 의해 밝혀져야 하겠지만 이들 "red complex"에 속하는 세균들이 근관감염에 깊이 관여하고 있고 발병기전에 중요한 역할을 하는 것은 분명하다. 따라서 이들 세균의 성장에 관한 연구와 더불어 억제할 수 있는 약물의 개발은 근관감염 예방과 치료에 중요하다. 한편 이들 각각의 세균을 억제한다는 것은 그 세균 자체뿐만 아니라 공생관계에 있는 다른 "red complex" 세균에게도 많은 영향을 끼칠 수 있다는 의미에서 중요하다.

*P. gingivalis*는 대체로 tetracycline에 감수적인 것으로 알려지고 있다<sup>53)</sup>. 그러나 Chung 등<sup>54)</sup>은 치주염 환자에서 분리한 *P. gingivalis* 균주 대부분이 tetracycline에 대한 내성 유전자를 갖고 있음을 관찰하였다. 따라서 tetracycline을 치료나 예방 목적으로 상용하기는 어려울 것으로 전망된다.

장내세균인 *E. faecalis*는 다양한 신체 부위에서 기회감염을 유발할 수 있지만<sup>34,35)</sup> 구강 내에는 위장관으로 이동하는 과정에서 일시적으로 체류하며, 또한 극히 소수가 존재한다. 그러나 근관치료 과정 중에 불충분한 무균치치로 인해 근관으로 침입하게 되면<sup>47)</sup> 근관세척용액이나<sup>45,46)</sup> 근관충전제<sup>68)</sup>, 항생제<sup>40)</sup> 등에 저항함으로써 결과적으로 근관치료의 실패를 초래하는 가장 중요한 세균으로 작용한다<sup>32,33)</sup>.

*E. faecalis*는 다양한 항생제에 저항할 뿐만 아니라<sup>38)</sup> 최근에는 vancomycin에 까지 저항하는 균주가 출현하고 있다<sup>69)</sup>. 또한 항생제 투여로 인한 *E. faecalis*의 균교대증도 나타나는 등<sup>70)</sup>, 임상적으로 매우 심각한 문제를 야기한다. Chung 등<sup>54)</sup>이 내성유전자의 존재여부를 조사한 치주질환 분리균주 중 일부가 *E. faecalis*균주에 내성유전자를 전달하는 것으로 관찰되었다. 이 같은 사실은 근관감염 시 이들 세균이 함께 존재한다면 기존에 이미 갖고 있는 항생제 내성뿐만 아니라 새로운 내성의 교환이 활발히 이루어져 다중항생제에 대한 내성이 획득되면 더욱 근관감염의 예방 및 치료가 어려워질 수 있다는 것을 시사하는 것으로 생각된다. 따라서 효율적이고 안전하여 상용할 수 있는 항생제 대체약물의 개발이 절실히 요구된다.

항생제 대체제로서의 polyP의 사용 가능성을 타진하기 위해 *P. gingivalis* A7A1 28과 W50에 대한 polyP의 항균 효과를 관찰하였다. 배양 초기에 polyP를 첨가시키고 함께 배양하였을 때 0.06~0.07%에서 대부분의 polyP가 이들 *P. gingivalis*의 성장을 거의 완전하게 억제할 수 있는 것으로 나타났다. 그러나 Pi나 P<sub>2</sub>i는 항균효과가 나타나지 않았다. 이전 연구에서도 *P. endodontalis*<sup>71)</sup>, *P. intermedia*<sup>62)</sup>에 대해서 polyP는 0.05% 전후로 첨가하였을 때 효과적으로 성장을 억제할 수 있는 것을 발견하였다. Mutans streptococci에 대한 polyP의 항균효과를 관찰한 강<sup>72)</sup>은 polyP가 *Streptococcus mutans* GS5에 대해서는 0.08%, *Streptococcus sobrinus* 6715에 대해서는 0.17% 농도에서 성장을 완전히 억제할 수 있다고 보고하였다. 이에 비하면 흑색질락형성 혐기간균은 polyP에 매우 감수적인 것으로 판단된다.

최 등<sup>63)</sup>은 *P. gingivalis* 2561에 대한 polyP의 항균효과를 관찰하였다. P3~P75 사슬길이의 polyP 모두 *P. gingivalis* 2561에 대해 강한 항균효과를 보였고 0.05%이면 성장이 완전히 억제되는 것으로 나타났다. 사슬길이에 따른 항균효과에는 큰 차이가 없는 것으로 나타났다. 다만 사용된 농도 중에서 높은 농도 범위에서는 polyP3이 상대적으로 항균효과가 높은 것으로 나타났다. 본 연구에서 짧은 사슬길이의 polyP는 상대적으로 높은 농도범위에서 다른 긴 사슬길이의 polyP보다 항균효과가 높게 나타났다(Fig. 1,2). 이 현상은 *P. endodontalis*<sup>71)</sup>에서도 관찰되었다. 반면 mutans streptococci<sup>72)</sup>에 대해서는 중간 사슬길이 (polyP15)의 polyP가 비교적 더 강한 항균효과를 보였고, 효모균인 *Candida albicans*에 대해서도 중간~긴 사슬길이의 polyP가 상대적으로 보다 나은 항균효과를 보였다<sup>73)</sup>. 이 같은 결과가 균의 어떤 특징에 따라 항균효과와 관련해서 사슬길이의 특이성이 나타나는 것인지는 확실치 않다. 그러나 Gram 양성균과 진균에 대한 polyP의 항균효과를 관찰한 Knabel<sup>74)</sup>, Zaika와 Kim<sup>58)</sup>의 경우 짧은 사슬길이의 polyP보다 긴 사슬의 polyP (본 실험에서 사용한 polyP와 비교했을 때는 중간 사슬길이에 해당)가 상대적으로 항균효과가 크게 나타난 것으로 미루어 앞으로 더 많은 세균종에 대한 polyP의 효과를 관찰한다면 사슬길이의 항균효과와 연관성을 찾을 수 있을 가능성도 배제할 수 없다.

일반 병원세균에 대한 polyP의 항균효과는 Gram음성세균 보다는 Gram양성세균에 대해 더 강하게 나타나는 것으로 보고되고 있다. 이것은 세포벽 또는 세포막의 안정을 위해 필요한 Mg<sup>++</sup>이 Gram음성세균보다 Gram양성세균에 더 많이 있어 polyP의 chelation 작용에 의해 제거되어 불안해지기 때문이며<sup>75)</sup> 그렇기 때문에 짧은 사슬길이보다는 chelation작용이 큰 긴 사슬길이의 polyP가 더 큰 항균효과를 발휘하기 때문이라고 생각하고 있다<sup>58,76)</sup>. 그러나 Gram

음성세균인 *P. gingivalis* 2561<sup>63)</sup>, 본 연구에서 사용한 *P. gingivalis* A7A1 28, W50, 그리고 *P. endodontalis* ATCC 35406<sup>71)</sup>, *P. intermedia* ATCC 49046<sup>62)</sup> 등 모두가 양성세균인 *mutans streptococci*<sup>72)</sup> 보다 polyP에 더 감수적이었고 가장 짧은 사슬길이 polyP인 polyP3에 의해 대체로 더 많이 억제되었다. 한편, 위의 구강세균 모두 polyP의 항균효과가 polyP에 의한 chelation 작용으로 초래된 용해현상 때문이라고 판단할 만한 증거가 나타나지 않았으며, 더욱이 chelation 방지를 위해 투여한 Mg<sup>++</sup>, Ca<sup>++</sup> 이온이 관찰된 약간의 용해현상을 발전시키기보다는 오히려 용해현상을 증가시켰다. 다만 본 실험에서 *P. gingivalis* A7A1 28은 chelation의 양성 대조를 위해 사용한 EDTA보다 많은 양의 핵산유리를 유도하였고(Table 1) Mg<sup>++</sup>, Ca<sup>++</sup> 이온을 첨가했을 때 핵산유리가 억제되었기 때문에 이 균주에서는 polyP의 chelation효과를 예상해볼 수 있을 것으로 보인다. W50균주에서도 유려되는 핵산양이 약간 증가하는 듯이 보이지만 다른 구강세균들에서 관찰되었던 것과 별 차이는 없었다. 대수증식에 polyP를 첨가했을 때 W50과 달리 A7A1 28은 흡광도가 시간에 따라 오히려 감소하는 것으로 나타난 것은(Fig. 3, 4) chelation에 의한 세균용해를 뒷받침하는 것으로 판단할 수 있다. 앞으로 polyP의 chelation효과, polyP의 사슬길이, 세균종에 따른 polyP효과의 차이 등에 관해 보다 광범위한 연구가 뒤따라야 polyP의 항균기전을 이해할 수 있을 것으로 생각된다.

*Micrococcus luteus* (*Sarcina lutea*)<sup>76)</sup>에 대한 polyP의 항균효과는 주로 대사억제를 통한 정균작용에 나타나는 반면, *Staphylococcus aureus*<sup>58,74)</sup>에 대해서는 살균 또는 세균용해작용을 통해 나타나는 것으로 보고되었다. 본 연구에서 초기배양 시 첨가하여 A7A1 28과 W50의 성장을 억제시킨 0.06, 0.07% 농도만큼 polyP를 대수증식에 있는 이들 세균에 첨가하여 흡광도로 증식을 관찰한 결과 polyP는 이들 균주의 증식이 더 이상 일어나지 못하게 억제하였을 뿐만 아니라 오히려 감소하기까지 하였다(Fig. 3, 4). 이 감소현상은 polyP가 정균작용이 아닌 살균작용을 갖고 있을 수 있다는 사실을 시사하는데, 생존수 측정 결과 실제로 polyP는 강한 살균효과를 갖고 있는 것으로 나타났다. PolyP의 살균효과는 위에서 언급한 구강세균 모두에서도 이미 관찰된 바 있다. 구강세균에 대한 polyP의 살균효과는 *S. aureus*에 대한 것보다 훨씬 강하게 나타났다. 때문에 polyP는 구강 감염질환을 위한 매우 효율적인 억제제로 개발될 수 있을 것으로 생각된다.

*P. gingivalis* A7A1 28과 W50은 전신적으로 감염을 일으킬 경우 매우 독성과 침투성이 강한 병원균으로 인식되고 있다<sup>77,79)</sup>. Mouse model에서 이 두 균주는 2561균주와 달리 광범위한 농양성, 괴사성, 궤양성 병소를 유발하고<sup>27)</sup> 독성능력이 크며<sup>30)</sup>, 치조골 파괴를 유도하는 것으로 관찰되고

있다<sup>31)</sup>. 중증의 치주염에는 이들과 같은 유전형에 속하는 *P. gingivalis*가 주로 나타나는 것으로 미루어<sup>28)</sup>, A7A1 28과 W50 유사균주가 근관에 감염을 일으킬 경우, 보다 심한 조직파괴로 인해 치근단 병소의 형성이 용이해질 것이라는 예상이 가능하다. 이런 점에서 이 두 균주에 대해 우수한 항균효과를 보이는 polyP는 근관감염 시 매우 유용한 항균제로 사용될 수 있음을 강력하게 시사하는 것이라고 생각된다.

치근단 병소를 수반한 근관치료 실패 치아에서 가장 많이 발견되는 *E. faecalis*는 앞서 언급한 바와 같이 여러 종류의 항균, 항생제에 저항하고<sup>40,45,46,68)</sup> 다른 일반 세균과는 다르게 단독으로 존재하여도 충분히 생존해 나갈 수 있는 등 탁월한 생태 적응성 때문에 통상 치료법과 치료약물로는 근본적인 제거가 어려울 때가 많다<sup>60)</sup>. 본 연구에서 *P. gingivalis* A7A1 28과 W50에 대해 고도로 정제된 polyP만큼 항균효과를 보인 practical grade의 polyP인 Calgon을 사용하여 *E. faecalis*에 대한 항균효과를 관찰하였다. 불행하게도 Calgon은 0.1~1%까지 첨가하고 배양하였으나 항균효과는 거의 나타나지 않았다(Table 3).

Ayres 등<sup>64,65)</sup>은 polyP가 Gram음성세균의 외막에 변형을 일으켜 항균물질, 항생제에 대한 감수성에 변화를 초래할 수 있다고 보고하였다. 본 연구에서 항생제와 Calgon (0, 0.1~1%)을 함께 투여하였을 때 *E. faecalis*에 대한 항생제의 항균효과에 미치는 영향을 관찰하였다(Table 4). Ampicillin, gentamicin, kanamycin에 대해선 전혀 영향을 미치지 않았으나 erythromycin (0.05  $\mu\text{g/ml}$ )과 tetracycline (1.25  $\mu\text{g/ml}$ )에 대해서는 Calgon 0.1, 0.2%부터 이들 항생제의 항균효과에 뚜렷한 상승효과를 나타냈다. Ayres 등<sup>64)</sup>도 polyP가 소수성 항생제인 erythromycin에 대한 *Pseudomonas aeruginosa*의 감수성을 증가시키는 것으로 보고하였다.

한편 penicillin G (0.5  $\mu\text{g/ml}$ )는 0.1~0.3% 농도의 Calgon 존재 하에서는 *E. faecalis*의 성장이 오히려 약간 증가하였다가 Calgon이 0.4%이상 첨가되면 성장이 크게 감소되기 시작하였다. Cefotaxime (0.2  $\mu\text{g/ml}$ )의 경우는 0.1~0.3% 농도에서는 Calgon이 항생제의 항균효과를 크게 상승시켰으나 0.4%부터 점차 다시 항균효과의 상승폭이 감소되기 시작하다가 1.0%에서는 cefotaxime 단독 첨가 시와 비슷한 *E. faecalis* 성장을 보였다. 이 현상은 erythromycin에서도 관찰되었다. 따라서 polyP에 의한 이들 항생제의 상승효과를 기대하기 위해서는 polyP첨가농도에 많은 주의가 필요할 것으로 보인다.

같은 Calgon첨가 농도에서 항생제의 농도를 2배로 증가시켰을 때(Table 5), 전체적인 양상은 낮은 농도로 항생제를 첨가했을 때와 비슷하였다. 항생제가 2배로 늘었을 때 erythromycin, penicillin G는 최종적으로는 *E. faecalis*

성장이 적은 양의 항생제를 첨가했을 때 보다 더 감소하는 것으로 나타났다. Tetracycline은 Calgon이 0.1~0.5%까지 함께 첨가되었을 경우 더 많은 상승효과가 나타났으나 Calgon이 1.0%까지 첨가되는 경우에는 적은 양의 tetracycline을 polyP와 함께 첨가되었을 경우와 비교하여 다소 상승효과의 폭이 감소되었다. 따라서 항생제와 polyP가 같이 사용될 때는 항생제와 Calgon양을 적정 농도, 적정비율로 처방하는 것이 필요할 것으로 생각된다.

Calgon과 함께 투여했을 때 농도 증가에 따라 가장 안정된 농도와 비례하여 항생제의 항균효과를 상승시켜주고 가장 강한 항균효과를 보여준 것은 tetracycline이었다. 이 사실은 임상적으로 매우 중요한 의미가 있는 것으로 판단된다. 왜냐하면, tetracycline계 항생제는 *P. gingivalis* 균주들에 대해 강한 항균효과가 있을 뿐만 아니라 다형핵백혈구에서 유래된 강력한 collagenase, 그리고 파골세포의 collagenase 활성을 억제함으로써 치주조직 파괴를 차단하고 오히려 조직의 재생을 촉진시키는 효과를 갖고 있기 때문이다<sup>82,83</sup>. 더욱이 polyP는 골재생을 촉진시키는 효과를 갖고 있어<sup>80</sup> 이 두 항균물질의 배합은 근관감염, 특히 치근단 병소를 동반한 경우, 그리고 치주질환 등 다양한 구강감염질환의 치료와 재감염에 유용하게 쓰일 수 있는 것으로 기대한다.

## V. 결 론

근관 감염의 발병기전에 중요한 *P. gingivalis* 중 독성, 침투성 균주인 A7A1 28과 W50, 그리고 근관치료 실패원인의 중요한 요인인 *E. faecalis* 균주인 ATCC 29212에 대한 항균효과를 관찰하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. *P. gingivalis* A7A1 28과 W50은 배양초기에 0.06~0.07% 첨가되었을 경우 모든 polyP에 의해 성장이 억제되었다.
2. 대수증식기의 *P. gingivalis* A7A1 28과 W50은 0.06~0.07%의 polyP75가 첨가하고 6~18시간 추가배양시 더 이상의 성장은 관찰되지 않았다.
3. PolyP75를 0.06~0.07% 첨가하고 배양한 *P. gingivalis* A7A1 28과 W50은 18시간 추가배양했을 때 세균수가 각각 98.1, 99.99% 감소하였다.
4. 배양, 세정한 후 *P. gingivalis* A7A1 28을 0.06% polyP75와 함께 배양시 유리되는 핵산량이 크게 증가하였으며 CaCl<sub>2</sub>, MgCl<sub>2</sub>를 첨가시 유리되는 핵산양은 감소하였다.
5. 배양, 세정한 후 *P. gingivalis* W50을 0.07% polyP75와 함께 배양시 유리되는 핵산량이 약간 증가하였으나 CaCl<sub>2</sub>, MgCl<sub>2</sub>를 첨가시 유리되는 핵산양이 증가하는 경향을 보였다.

6. *E. faecalis* ATCC 29212는 hexametapolyphosphate인 Calgon을 1%까지 첨가하고 배양해도 성장억제가 나타나지 않았다.
7. Calgon 0.1~1.0%와 함께 배양시 항생제 tetracycline은 *E. faecalis*에 대한 항균효과가 크게 증가하여 Calgon에 의한 tetracycline의 항균 상승효과가 뚜렷하게 나타났다. 반면 ampicillin, gentamicin, kenamycin에 대한 Calgon의 항균상승효과는 관찰되지 않았다.
8. Cefotaxime은 저농도의 Calgon과 함께 배양시 *E. faecalis*에 대한 항균효과가 크게 상승되었다. 고농도의 Calgon과 함께 있을 때는 점차 상승효과가 감소되어 최종적으로 cefotaxime 단독의 항균효과와 비슷하게 나타났다.
9. 저농도의 erythromycin은 저농도의 Calgon과 함께 배양시 *E. faecalis*의 성장이 erythromycin 단독 배양시보다 감소되었다가 Calgon 1%와 같이 첨가되었을 경우 다시 성장이 원상회복되었다. 고농도의 erythromycin과 Calgon (0.5~1%)이 첨가되었을 경우 다소 성장이 회복되었으나 여전히 성장억제효과는 큰 것으로 나타났다.
10. Penicillin G는 저농도의 Calgon과 함께 배양했을 때 *E. faecalis*의 성장이 penicillin G 단독 배양시보다 항균효과가 감소되었다가 0.4%부터 항균효과가 크게 상승되었다.

이상의 결과로 미루어 polyP는 독성균주인 *P. gingivalis* A7A1 28과 W50에 대해 강한 항균효과가 있으며, 이 항균효과는 polyP의 살균작용을 통해 나타나는 것으로 추측된다. 이들 균주의 사멸과 용해는 polyP의 chelation 작용, 또는 아직 밝혀지지 않은 기전에 이루어졌을 것으로 판단된다. PolyP 자체는 *E. faecalis*에 대한 항균작용은 없으나 항생제의 항균효과를 상승시키는 것으로 나타나 polyP 단독, 또는 항생제와 polyP의 적절한 조합은 근관감염을 비롯한 다양한 감염질환에 유용하게 사용될 수 있을 것으로 생각된다.

## 참고문헌

1. Dahlen G and Moller AJR: Microbiology of endodontic infections. p.444 475. In Slots, J. and Taubman M.A.(ed.), Contemporary oral microbiology and immunology. Mosby Year Book Inc. St. Louis, 1992.
2. Miller WD: Microorganisms of the human mouth. S.S. White Dental Co. Philadelphia, 1890.
3. Henrici AT and Hartzell T.B.: The bacteriology of vital pulp. *Res J*, 1:419 422, 1919.
4. Haapasalo M: Black pigmented Gram negative anaerobes in endodontic infections. *FEMS Immunol Med Microbiol*, 6:213 218, 1993.

5. Kobayashi T, Hayashi A, Yoshikawa R, Okuda K and Hara K.: The microbial flora from root canals and peri-odontal pockets of non vital teeth associated with advanced periodontitis. *Int Endod J*, 23:100-106, 1990.
6. Van Winkelhoff AJ, Carlee AW and de Graaff J: *Bacteroides endodontalis* and other black pigmented *Bacteroides* species in odontogenic abscesses. *Infect Immun*, 49: 494-497, 1985.
7. Haapasalo M: *Bacteroides* spp. in dental root canal infections. *Endod Dent Traumatol*, 5:1-10, 1989.
8. Sundqvist G, Johansson E and Sjögren U: Prevalence of black pigmented *Bacteroides* species in root canal infections. *J Endod*, 15:13-19, 1989.
9. Rupp S, Kannengiesser S, Merte K, Pfister W, Sigusch B and Eschrich K: Comparison of profiles of key peri-odontal pathogens in periodontium and endodontium. *Endod Dent Traumatol*, 16:269-275, 2000.
10. Rocas IN, Siqueira JF Jr, Santos KR and Coelho AM: "Red complex" (*Bacteroides forsythus*, *Porphyromonas gingivalis*, and *Treponema denticola*) in endodontic infections: a molecular approach. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 91:468-471, 2001.
11. Sundqvist G: Bacteriological studies of necrotic dental pulps. Thesis. Umea University, Odontology, Dissertation No. 7, 1976 (cited from the reference No. 4).
12. Griffie MB, Patterson SS, Miller CH, Kafrawy AH and Newton CW: The relationship of *Bacteroides melaninogenicus* to symptoms associated with pulpal necrosis. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*, 50:457-461, 1980.
13. Yoshida M, Fukushima H, Yamamoto K, Ogawa K, Toda T and Sagawa H: Correlation between clinical symptoms and microorganisms isolated from root canals with periapical lesions. *J Endod*, 13:24-28, 1987.
14. Haapasalo M, Ranta H, Ranta K and Shah H: Black pigmented *Bacteroides* spp. in human apical periodontitis. *Infect Immun*, 53:149-153, 1986.
15. Mayrand D and Holt SC: Biology of asaccharolytic black pigmented *Bacteroides* species. *Microbiol Rev*, 52:134-152, 1988.
16. Socransky SS and Haffajee AD: Microbial mechanisms in the pathogenesis of destructive periodontal diseases: a critical assessment. *J Periodont Res*, 26:195-212, 1991.
17. Van Winkelhoff AJ, van Steenberghe TJM, Kippuw N and de Graaff J: Enzymatic characterization of oral and nonoral black pigmented *Bacteroides* species. *Anton. Van Leeuwenh.*, 52:163-171, 1986.
18. Nakamura R, Hinode D, Terai H and Morioka M: Extracellular enzymes of *Porphyromonas (Bacteroides) gingivalis* in relation to periodontal destruction. P.129-141. In S. Hamada, S.C. Holt, and J.R. McGhee (ed.), *Periodontal diseases: pathogens and host immune responses*, Quintessence Publishing Co., Ltd., Tokyo, 1991.
19. Wingrove JA, DiScipio RG, Chen Z, Potempa J, Travis J and Hugli TE: Activation of complements C3 and C5 by a cysteine proteinase (Gingipain 1) from *Porphyromonas (Bacteroides) gingivalis*. *J Biol Chem*, 267: 18902-18907, 1992.
20. Frandsen EVG: Hydrolysis of immunoglobulins. p.219-226. In H.N. Shah, D. Mayrand, and R.J. Genco (ed.), *Biology of the species Porphyromonas gingivalis*, CRC Press, Boca Raton, 1993.
21. Jagels MA, Travis J, Potempa J, Pike R and Hugli TE: Proteolytic inactivation of the leukocyte C5a receptor by proteinases derived from *Porphyromonas gingivalis*. *Infect Immun*, 64:1984-1991, 1996.
22. Tai H, Kobayashi T and Hara K: Changes in complement and immunoglobulin G receptor expression on neutrophils associated with *Porphyromonas gingivalis* induced inhibition of phagocytosis. *Infect Immun*, 61: 3533-3535, 1993.
23. Ding Y, Haapasalo M, Kerosuo E, Lounatmaa K, Kotiranta A and Sorsa T: Release and activation of human neutrophil matrix metallo- and serine proteinases during phagocytosis of *Fusobacterium nucleatum*, *Porphyromonas gingivalis* and *Treponema denticola*. *J Clin Periodontol*, 24:237-248, 1997.
24. Hamada, N, Watanabe K, Arai M, Hiramine H and Umemoto T: Cytokine production induced by a 67 kDa fimbrial protein from *Porphyromonas gingivalis*. *Oral Microbiol Immunol*, 17:197-200, 2002.
25. Lee JY, Sojar HT, Bedi GS and Genco RJ: *Porphyromonas (Bacteroides) gingivalis* fimbriin: size, amino terminal sequence, and antigenic heterogeneity. *Infect Immun*, 59:383-389, 1991.
26. Amano A, Nakagawa I, Kataoka K, Morisaki I and Hamada S: Distribution of *Porphyromonas gingivalis* strains with *fimA* genotypes in periodontitis patients. *J Clin Microbiol*, 37:1426-1430, 1999.
27. Genco CA, Cutler CW, Kapczynski D, Maloney K and Arnold RR: A novel mouse model to study the virulence of and host response to *Porphyromonas (Bacteroides) gingivalis*. *Infect Immun*, 59:1255-1263, 1991.
28. Evans RT, Klausen B, Ramamurthy NS, Golub LM, Sfantescu C and Genco RJ: Periodontopathic potential of two strains of *Porphyromonas gingivalis* in gnotobiotic rat. *Arch Oral Biol*, 37:813-819, 1992.
29. Katz J, Ward DC and Michalek SM: Effect of host responses on the pathogenicity of strains of *Porphyromonas gingivalis*. *Oral Microbiol Immunol*, 11:309-318, 1996.
30. Ebersole JL, Kesavalu L, Schneider SL, Machen RL and Holt SC: Comparative virulence of periodontopathogens in a mouse abscess model. *Oral Dis*, 1: 115-128, 1995.
31. Baker PJ, Dixon M, Evans RT and Roopenian DC: Heterogeneity of *Porphyromonas gingivalis* strains in the induction of alveolar bone loss in mice. *Oral Microbiol Immunol*, 15:27-32, 2000.
32. Sundqvist G, Figdor D, Persson S and Sjogren U: Microbiologic analysis of teeth with failed endodontic treatment and the outcome of conservative re-treatment. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 85:86-93, 1998.
33. Hancock HH 3rd., Sigurdsson A, Trope M and Moiseiwitsch J: Bacteria isolated after unsuccessful endodontic treatment in a North American population. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 91:579-586, 2001.
34. Morrison D, Woodford N and Cookson B: Enterococci as emerging pathogens of humans. *J Appl Microbiol*, 83:S89-S99, 1997.
35. Jett BD, Huycke MM and Gilmore MS: Virulence of enterococci. *Clin Microbiol Rev*, 7:462-478, 1994.
36. Wahlin YB and Holm AK: Changes in the oral microflora in patients with acute leukemia and related

- disorders during the period of induction therapy. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*, 65:411 417, 1988.
37. Rams TE, Feik D, Lisgarten MA and Slots J: Enterococci in human periodontitis. *Oral Microbiol Immunol*, 7:249 252, 1992.
  38. Dahlen G, Samuelsson W, Molander A and Reit C: Identification and antimicrobial susceptibility of enterococci isolated from the root canal. *Oral Microbiol Immunol*, 15:309 312, 2000.
  39. Linden PK: Treatment options for vancomycin resistant enterococcal infections. *Drugs*, 62:425 441, 2002.
  40. Lima KC, Fava LR and Siqueira JF Jr.: Susceptibilities of *Enterococcus faecalis* biofilms to some antimicrobial medications. *J Endod*, 27:616 619, 2001.
  41. Gomes BP, Ferraz CC, Vianna ME, Berber VB, Teixeira FB and Souza Filho FJ: In vitro antimicrobial activity of several concentrations of sodium hypochlorite and chlorhexidine gluconate in the elimination of *Enterococcus faecalis*. *Int Endod J*, 34:424 428, 2001.
  42. Almyroudi A, Mackenzie D, McHugh S and Saunders WP: The effectiveness of various disinfectants used as endodontic intracanal medications: an in vitro study. *J Endod*, 28:163 167, 2002.
  43. Love RM: *Enterococcus faecalis* a mechanism for its role in endodontic failure. *Int Endod J*, 34:399 405, 2001.
  44. Ørstavik D and Haapasalo M: Disinfection by endodontic irrigants and dressings of experimentally infected dentinal tubules. *Endod Dent Traumatol*, 6:142 149, 1990.
  45. Haapasalo HK, Sirén EK, Waltimo TM, Ørstavik D and Haapasalo MP.: Inactivation of local root canal medicaments by dentine: an in vitro study. *Int Endod J*, 33:126 31, 2000.
  46. Molander A, Reit C and Dahlen G: The antimicrobial effect of calcium hydroxide in root canals pretreated with 5% iodine potassium iodide. *Endod Dent Traumatol*, 15:205 9, 1999.
  47. Sirén EK, Haapasalo MP, Ranta K, Salmi P and Kerosuo EN: Microbiological findings and clinical treatment procedures in endodontic cases selected for microbiological investigation. *Int Endod J*, 30:91 95, 1997.
  48. Fuss Z, Charniaque O, Pilo R and Weiss E: Effect of various mixing ratios on antibacterial properties and hardness of endodontic sealers. *J Endod*, 26:519 522, 2000.
  49. Fuss Z, Weiss EI and Shalhav M: Antibacterial activity of calcium hydroxide containing endodontic sealers on *Enterococcus faecalis* in vitro. *Int Endod J*, 30:397 402, 1997.
  50. Shalhav M, Fuss Z and Weiss EI: In vitro antibacterial activity of a glass ionomer endodontic sealer. *J Endod*, 23:616 619, 1997.
  51. 박석범, 최기운, 최호영: Polyphosphate가 함유된 근관충진재가 구강세균의 성장에 미치는 영향. *대한치과보존학회지*, 26: 141 152, 2001.
  52. Economides N, Kotsaki Kovatsi VP, Pouloupoulos A, Kolokuris I, Rozos G and Shore R: Experimental study of the biocompatibility of four root canal sealers and their influence on the zinc and calcium content of several tissues. *J Endod*, 21:122 127, 1995.
  53. Andrés MT, Chung WO, Roberts MC and Fierro JF: Antimicrobial susceptibilities of *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, and *Prevotella nigrescens* spp. isolated in Spain. *Antimicrob Agents Chemother*, 42:3022 3023, 1998.
  54. Chung WO, Gabany J, Persson GR and Roberts MC: Distribution of *erm*(F) and *tet*(Q) genes in 4 oral bacterial species and genotypic variation between resistant and susceptible isolates. *J Clin Periodontol*, 29:152 158, 2002.
  55. Kulaev IS: Biochemistry of inorganic polyphosphates. *Rev Physiol Biochem Pharmacol*, 73:131 158, 1975.
  56. Kornberg A, Narayama NR and Ault Riche D: Inorganic polyphosphate: a molecule of many functions. *Annu Rev Biochem*, 68:89 125, 1999.
  57. U. S. Department of Agriculture: Meat and poultry products: phosphates and sodium hydroxide. *Federal Register Rule and Regulation* 47:10779, 1982.
  58. Zaika LL and Kim AH: Effect of sodium polyphosphate on growth of *Listeria monocytogenes*. *J Food Prot*, 56:577 580, 1993.
  59. Lee RM, Hartman PA, Stahr HM, Olson DG and Williams FD: Antibacterial mechanism of long chain polyphosphates in *Staphylococcus aureus*. *J Food Prot*, 57:289 294, 1994.
  60. Tanzer JM and Hageage GJJr.: Polyphosphate inhibition of growth of plaque formed by streptococci and diphtheroids implicated in oral disease. *Infect Immun*, 1:604 606, 1970.
  61. Shibata H and Morioka T: Antibacterial action of condensed phosphates on the bacterium *Streptococcus mutans* and experimental caries in the hamster. *Arch Oral Biol*, 27:809 816, 1982.
  62. 공희경, 최호영, 민병순, 박상진, 이진용, 최기운: 구강세균 *Prevotella intermedia*의 성장에 따른 polyphosphate의 영향에 관한 연구. *대한치과보존학회지*, 23:550 560, 1998.
  63. 최인식, 박병래, 김홍렬, 신재원, 최유진, 최영철, 이진용: *Porphyromonas gingivalis*에 대한 polyphosphate의 항균 효과. *대한미생물학회지*, 34:285 301, 1999.
  64. Ayres HM, Furr JR and Russell AD: Effect of permeabilizers on antibiotic sensitivity of *Pseudomonas aeruginosa*. *Lett Appl Microbiol*, 28:13 16, 1999.
  65. Socransky SS, Haffajee AD, Cugini MA, Smith C and Kent RL Jr.: Microbial complexes in subgingival plaque. *J Clin Periodontol*, 25:134 144, 1998.
  66. Yao ES, Lamont RJ, Leu SP and Weinberg A: Interbacterial binding among strains of pathogenic and commensal oral bacterial species. *Oral Microbiol Immunol*, 11:35 41, 1996.
  67. Niluis AM, Spencer SC and Simonson LG: Stimulation of in vitro growth of *Treponema denticola* by extracellular growth factors produced by *Porphyromonas gingivalis*. *J Dent Res*, 72:1027 1031, 1993.
  68. Torabinejad M, Hong CU, Pitt Ford TR and Kettering JD: Antibacterial effects of some root end filling materials. *J Endod*, 21: 403 406, 1995.
  69. Jones ME, Gesu G, Ortisi G, Sahn DF, Critchley IA and Goglio A: Proficiency of Italian clinical laboratories in detecting reduced glycopeptide susceptibility in *Enterococcus* and *Staphylococcus* spp. using routine laboratory methodologies. *Clin Microbiol Infect*, 8:101 111, 2002.
  70. Chow JW, Davidson A, Sanford E 3rd and Zervos MJ: Superinfection with *Enterococcus faecalis* during quinupristin/dalfopristin therapy. *Clin Infect Dis*, 24:91 92, 1997.
  71. 최성백, 박상진, 최기운, 최호영: *Porphyromonas endodontalis*, *Prevotella intermedia*, and *Prevotella nigrescens* spp. isolated in Spain. *Antimicrob Agents Chemother*, 42:3022 3023, 1998.

- talis*에 대한 polyphosphate의 항균기전에 관한 연구. 대한치과보존학회지, 25:561-574, 2000.
72. 강계숙: Mutans streptococci에 대한 polyphosphate의 항균효과. 경희대학교 박사논문, 2001.
73. 김태진: Candida albicans에 대한 polyphosphate의 항균효과. 경희대학교 석사논문, 2002.
74. Knabel SJ, Walker HW and Hartman PA: Inhibition of *Aspergillus flavus* and selected Gram positive bacteria by chelation of essential metal contains by polyphosphate. *J Food Prot*, 54:360-365, 1991.
75. Ellwood DC and Tempest DW: Effects of environment on bacterial wall content and composition. *Adv Microb Physiol*, 7:83-117, 1972.
76. Post FJ and Krishnamurty GB, Flanagan MD: Influence of sodium hexametaphosphate on selected bacteria. *Appl Microbiol*, 11:430-435, 1963.
77. Van Steenberg TJM, Kastelein P, Touw JJA and de Graaff J: Virulence of black pigmented *Bacteroides* strains from periodontal pockets and other sites in experimentally induced skin lesions in mice. *J Periodontal Res*, 17:41-49, 1982.
78. Neiders ME, Chen PB, Suido H, Reynolds HS, Zambon JJ, Shlossman M and Genco RJ: Heterogeneity of virulence among strains of *Bacteroides gingivalis*. *J Periodontal Res*, 24:192-198, 1989.
79. Chen PB, Neiders ME, Millar SJ, Reynolds HS and Zambon JJ: Effect of immunization on experimental *Bacteroides gingivalis* infection in a murine model. *Infect Immun*, 55:2534-2537, 1987.
80. Engström B: The significance of enterococci in root canal treatment. *Odont Revy*, 15:87-106, 1964.
81. Ayres H, Furr JR and Russell AD: A rapid method of evaluating permeabilizing activity against *Pseudomonas aeruginosa*. *Lett Appl Microbiol*, 17:149-151, 1993.
82. Seymour RA and Heasman PA: Tetracyclines in the management of periodontal diseases. A review. *J Clin Periodontol*, 22:22-35, 1995.
83. Vernillo AT and Rifkin BR: Effects of tetracyclines on bone metabolism. *Adv Dent Res*, 12:56-62, 1998.
84. Lee JY, Ryu DM, Shin and JW: Inorganic polyphosphate promotes bone regeneration. *Korean J Oral Anat*, 23:219-235, 1999.

---

## 최 기 운

경희대학교 치과대학 교수

서울특별시 동대문구 회기동 1번지 경희대학교 치과대학 보존학교실

Tel : 02) 958-9335

E-mail : gwchoi@khu.ac.kr