

New Approaches to the Control of Pathogenic Oral Bacteria

Soo Jeong Cho*

Department of Pharmaceutical Engineering, Gyeongnam National University of Science and Technology, 33 Dongjin-ro, Jinju 52725, Korea

Received January 19, 2021 / Revised January 26, 2021 / Accepted January 27, 2021

In the oral cavity, there are hundreds of microbial species that exist as planktonic cells or are incorporated into biofilms. The accumulation and proliferation of pathogenic bacteria in the oral biofilm can lead to caries and periodontitis, which are typical oral diseases. The oral bacteria in the biofilm not only can resist environmental stress inside the oral cavity, but also have a 1,000 times higher resistance to antibiotics than planktonic cells by genes exchange through the interaction between cells in the oral biofilm. Therefore, if the formation of oral biofilm is suppressed or removed, oral diseases caused by bacterial infection can be more effectively prevented or treated. In particular, since oral biofilms have the characteristic of forming a biofilm by gathering several bacteria, quorum sensing, a signaling system between cells, can be a target for controlling the oral biofilm. In addition, a method of inhibiting biofilm formation by using arginine, an alkali-producing substrate of oral bacteria, is used to convert the distribution of oral microorganisms into an environment similar to that of healthy teeth or inhibit the secretion of glucosyltransferase by *S. mutans* to inhibit the formation of non-soluble glucans. It can be a target to control oral biofilm. This method of inhibiting or removing the oral biofilm formation rather than inducing the death of pathogenic bacteria in the oral cavity will be a new strategy that can selectively prevent or therapeutic avenues for oral diseases including dental caries.

Key words : Arginine, biofilm, glucosyltransferase inhibitor, oral bacteria, quorum sensing inhibitor

서 론

미생물은 우리 주변의 어디에나 있지만 단독으로 있거나 부유성 세균(planktonic cells)으로 존재하는 경우는 거의 없고 외부환경에 반응하여 부유성 세균과 바이오필름(biofilm)을 오가며 살아가고 있다. 바이오필름은 세포가 표면에 부착되고 세포와 세포가 응집하여 형성된 것으로 미생물이 분비한 세포 외고분자물질(extracellular polymeric substance, EPS)로 이루어진 매트릭스에 둘러싸여 있어서 슬라임(slime)이라고 불리기도 한다[5]. 세포외고분자물질 또는 바이오필름의 매트릭스 주요 구성 요소는 다당류이며, 다당류는 바이오필름 형성 및 안정화에 필요한 대부분의 세포와 표면 또는 세포와 세포 상호작용을 매개한다[3, 9]. 특히, 세균은 자연계에서 수도관, 선박의 선체, 토양 또는 인체의 위장관, 인후두, 구강 표면에 결합하여 바이오필름을 형성하고 바이오필름이 형성되면 바이오필름 매트릭스를 통한 항생제의 침투 장애, 약물 저항성 유전자의 발현 증가, 바이오필름 내 세포의 대사활동 감소 등이 나타나기 때문에 바이오필름 내부의 세균은 숙주의 방어 메커

니즘과 항생제에 내성을 나타낼 수 있다[25, 26].

구강에는 700여종의 미생물이 복잡하고 역동적인 바이오필름을 형성하고 있는데 이를 구강 바이오필름(dental biofilm)이라고 하고 치아에 형성된 바이오필름은 치면 세균막(치태, dental plaque)이라고 한다. 구강 세균은 타액의 흐름, 숙주의 항균 단백질(defensins, cathelicidin, lactoferrin), 영양소의 가용성 및 pH 변화, 항생제 등의 영향을 받고 있는데 물리적으로 두꺼운 층을 형성하고 있는 치면세균막 내부의 구강세균은 이와 같은 환경적인 스트레스에 저항할 수 있을 뿐만 아니라 외부 물질의 침투가 어렵고 세포와 세포의 상호작용으로 유전적 변이가 일어날 수 있기 때문에 부유성 세균일 때보다 항생제에 대해 높은 저항성을 나타낼 수 있다[1]. 치면세균막 형성에 관여하는 세균은 치면세균막 형성 단계에 따라 상이하며 치면세균막 형성 초기에는 그람 양성 세균이 치아 표면에 부착되고 이어서 그람 양성 세균이 그람 음성 세균과 응집하여 후기 치면 세균막이 완성된다[3]. 예를 들어 음식물을 통해 탄수화물이 섭취되면 구강에 존재하는 700여 종의 구강 미생물 중 *Streptococcus mutans*가 sucrose를 다당류인 glucose와 fructose로 가수분해하고 glucose는 *S. mutans*가 분비하는 glucosyltransferase (GTFase)에 의해 gummy polysaccharide인 dextran이 된다. 그리고, dextran이 구강 세균과 침착되어 구강 바이오필름인 치면 세균막을 형성하고 치면세균막에 칼슘이 침착되어 단단해지면 치석(dental calculus)이 되며 치석은 치아 표면에 세균을 고정하는 매트릭스 역할을 한다. 한편 가수분해된 fructose는 *S. mutans*에 의해 젖산(lactic acid)을

*Corresponding author

Tel : +82-55-751-3397, Fax : +82-55-751-3399

E-mail : sjcho@gntech.ac.kr

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

생성하고 이로 인해 pH가 낮아져서 치아의 탈회가 일어나 충치라 불리는 치아우식증이 유발된다[35]. 따라서 치아우식증을 비롯한 구강질환을 효과적으로 예방 및 치료하기 위해서는 바이오필름의 제어가 반드시 필요하다.

이 논문에서는 구강세균의 바이오필름 형성 과정과 구강질환을 선택적으로 제어할 수 있는 새로운 전략으로서 구강 바이오필름 형성을 억제하거나 구강 세균에 의해 형성된 바이오필름을 분산시키는 방법에 관하여 알아보려고 한다.

본 론

구강 미생물의 생태계

구강을 비롯한 인체의 모든 점막 표면에는 미생물들이 광범위하게 존재하고 있다. 특히 구강은 지속적으로 분비되는 타액과 음식 섭취를 통해 미생물이 생육하고 증식하는데 필요한 당분과 아미노산 등의 영양분이 제공되고 있지만 구강 내에서 서식하는 미생물의 종류나 분포 비율은 항상 일정하게 유지하려고 하는 항상성을 지니고 있다. 이러한 미생물 생태계의 항상성은 인체의 면역시스템이 정상적으로 작용하여 미생물 군집에 과도한 스트레스 요인만 제공하지 않는다면 건강한 구강 상태를 유지할 수 있다[43]. 그러나 이와 같은 미생물 생태계의 항상성이 파괴되어 병원성 미생물이 우점하게 되면 대표적인

구강질환인 치아우식증과 치주질환이 발병될 수 있다[33]. 구강 미생물은 수백여 종의 미생물이 치아 표면에 부착하여 바이오필름을 형성하고 지속적으로 상호작용을 하면서 숙주 및 외부환경에 따라 끊임없이 변화하며 구강 건강에 영향을 미치고 있다(Fig. 1).

구강 세균의 바이오필름 형성

바이오필름 형성은 복잡하고 동적인 과정으로 1) 부착단계(attachment), 2) 응집단계(aggregation), 3) 바이오필름 형성단계(biofilm formation), 4) 바이오필름 성숙단계(maturation), 5) 분산 단계(dispersion)로 이루어져 있고 각 단계는 물리적, 생물학적 및 환경적인 요소에 의해 좌우된다(Fig. 2). 구강 바이오필름은 타액에서 유래된 당단백질(glycoprotein)에 의해 1 μm 미만의 무세포성 획득 피막(acquired pellicle)이 치아표면에 형성되면서 시작된다. 부착단계에서는 *S. mutans*를 비롯한 *Streptococcus* 속이 치아표면에 부착되고 이 미생물들이 다당류를 분비하여 서로 응집되는 응집단계를 거쳐 초기 바이오필름이 형성된다[4, 5]. 그리고 초기에 형성된 바이오필름에 지속적으로 새로운 구강 미생물이 부착되고 서로 응집하면서 연결막(linking film)을 형성하는 동시에 바이오필름 내부의 미생물은 표현형의 변화를 일으키면서 바이오필름 내부 환경에 적응하게 되어 후기 바이오필름이 완성된다. 바이오필름

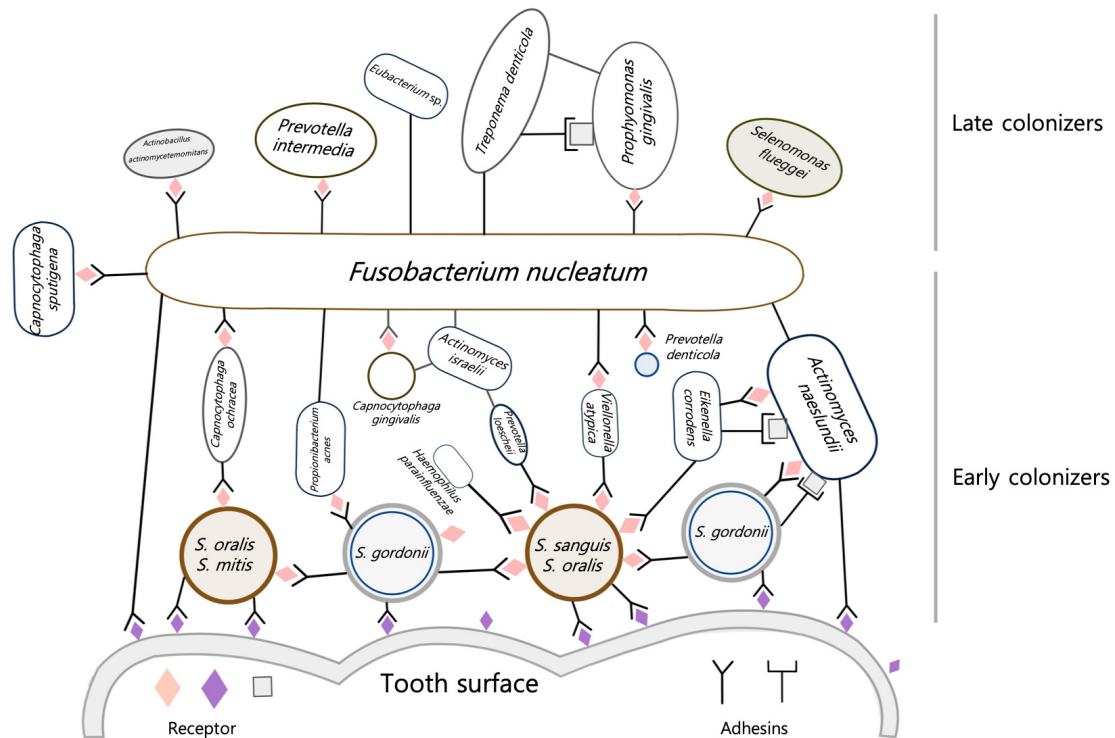


Fig. 1. A model of oral biofilm formation on the tooth surface [3]. The acquired pellicle on the tooth surface is recognized by early colonizing bacteria (*Streptococcus oralis*, *Streptococcus mitis*, *Streptococcus gordonii* and *Streptococcus sanguis*) that express receptors for salivary agglutinin glycoprotein. Then other bacteria colonize using receptors and adhesins to eventually form dental plaque.

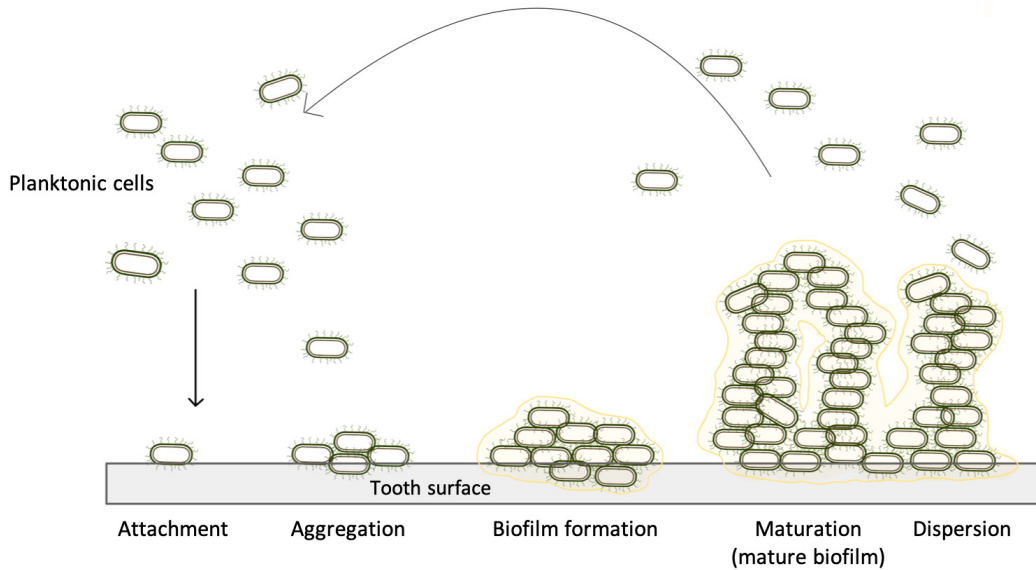


Fig. 2. A developmental model of oral biofilm formation. Biofilm formation is explained 5 distinct stages as 1) attachment, 2) aggregation 3) biofilm formation, 4) maturation, and 5) dispersion [38].

형성단계에서는 정족수 감지(quorum sensing, QS)에 의해 바이오필름이 형성되고 바이오필름 성숙단계에서는 바이오필름 내에 있는 서로 다른 종의 세균들이 서로 상호 작용할 수 있는 3차원 구조로 바이오필름이 발달하게 되는데 이와같이 3차원 구조를 이루고 있는 바이오 필름을 성숙한 바이오필름 (mature biofilm)이라고 한다. 바이오필름의 마지막 단계인 분산단계는 세포가 바이오필름에서 분산되어 부유성 세균으로 되돌아가서 새로운 바이오필름 형성을 준비하는 단계이다[15, 27].

바이오필름을 형성한 세균 종들은 신호물질(auto-inducer)을 분비하여 세포밀도-의존성 유전자(cell-density dependent gene expression) 조절 기전인 QS를 통해 바이오필름 내에서 상호경쟁하거나 협력하여 영양소를 확산시키고, 최종 대사 산물인 노폐물을 제거하여 자신들의 생태계를 유지한다. 또한 바이오필름을 통해 바이오필름 내부의 세균들은 외부 환경 변화에 대한 물리적, 전기적 보호를 받는다. 따라서 부유성 세균과 비교했을 때 바이오필름 내부의 세균은 치약이나 구강 세정제에 함유되어 있는 항균물질에 높은 내성을 나타낸다. 바이오필름 내부의 세균은 부유성 세균에 비해 치약이나 구강 세정제와 같은 구강건강케어제품에 이용되고 있는 대표적인 항균물질인 클로르헥시딘(chlorhexidine digluconate)에 대해서는 300배, 불화아민(amine fluoride)에 대하여는 75배의 저항성을 보이고 항생제에 대해서는 약 1,000배 정도 높은 저항성을 나타낸다[11, 18]. 따라서 바이오필름을 형성하는 세균은 일반적으로 사용되고 있는 MIC (Minimal inhibition concentration) 대신에 MBEC (Minimal biofilm eradication concentration)를 사용하여 바이오필름을 형성하는 세균의 항생제 감수성 정도를 나타내고 있다.

또한, 바이오필름이 형성되면 구강 미생물의 군집에 변화를 줄 수 있다. 예를 들어 초기 치아우식증은 호기적 조건에서 진행되지만 후기 치아우식증은 *S. mutans*에 의해 에나멜 층이 탈회된 후 세균이 에나멜 층 안으로 들어가면서 나타나기 때문에 혐기적 조건에서 진행된다. 따라서 초기 치아우식증과 후기 치아우식증에 관여하는 세균의 군집은 매우 상이한데 치아 표면에 바이오필름이 형성되면 산소 투과성이 저해되기 때문에 이와 같은 미생물 군집의 전이가 촉진될 수 있다[12, 21].

일반적으로 침이나 치은구 삼출액(crevicular exudate)에는 대식세포(macrophage)와 같은 면역세포나 lysozyme이 함유되어 있기 때문에 초기 치아우식증과 치주질환에 관여하는 세균에 대해 면역반응을 나타내지만 구강 세균에 의해 바이오필름이 만들어지면 대식세포와 lysozyme은 바이오필름을 통과할 수 없기 때문에 바이오필름 내부의 세균은 대식세포와 lysozyme에 저항성을 나타낸다[13]. 따라서 구강 세균을 물리적으로 제거하거나 사멸을 유도하기 보다는 구강 세균이 형성하는 바이오필름을 효과적으로 제거하면 치아우식증을 비롯한 구강질환을 선택적으로 예방하거나 치료 할 수 있을 것이다.

***P. gingivalis*의 독성 인자(virulence factors) 발현 억제**

치주질환은 치아 주변 조직인 치은, 치조골, 치주인대 및 백악질에 염증이 발생하는 질환으로 치아 소실의 주요한 원인이며 동맥경화증과 같은 심혈관질환뿐만 아니라 폐혈증, 유산, 조산, 폐렴 및 당뇨병과도 밀접한 관련이 있는 것으로 보고되었다[43]. 치주질환과 관련된 세균은 치은연하(gingiva)의 치면세균막에 분포하고 있는 그람음성 혐기성 세균이며 대표적인 치주질환 원인균은 *P. gingivalis*이다. *P. gingivalis*는 폴라켄을 분해하고 capsules, fimbriae, exopolysaccharide, lip-

opolysaccharide (LPS) 등과 같은 독성인자를 분비하여 치주 조직을 직·간접적으로 파괴하는 것으로 알려져 있다. *P. gingivalis*의 독성인자 중에서 fimbriae는 세포 외막에 고정되어 바이오필름 형성에 영향을 주는 단백질성 세포외구조로 *P. gingivalis*는 FimA 서브 유닛으로 구성된 긴 fimbriae와 Mfa1 서브 유닛으로 구성된 짧은 fimbriae를 가지고 있으며 fimbriae는 *P. gingivalis*가 치아표면에 안정적으로 부착하고 세포와 세포가 응집하는 것을 매개한다(Fig. 3). 긴 fimbriae인 FimA는 세균과 숙주 세포의 초기 부착과 *P. gingivalis*의 자기응집(auto-aggregation) 및 *P. gingivalis*와 *Actinomyces viscosus*, *Treponema denticola*, *Streptococcus gordonii*, *Streptococcus oralis*의 공동응집(co-aggregation)에 관여하고 짧은 fimbriae인 Mfa1는 *P. gingivalis*와 *S. gordonii*의 공동 응집에 관여함으로써 *P. gingivalis*의 바이오필름 형성에 영향을 미치고 있다[17, 31]. 따라서 *P. gingivalis*의 독성인자 중 fimbriae의 발현이 억제되면 바이오필름 형성이 저해되기 때문에 치주염 원인균인 *P. gingivalis*의 사멸을 유도하지 않고 치주질환을 효과적으로 예방하거나 치료할 수 있을 것이다. *P. gingivalis*의 fimbria 발현 억제효과가 있는 대표적인 화합물에는 퀘세틴(querctetin), 레스베라트롤(resveratrol) 및 관련 화합물, 카테킨(catechin), 에피카테킨(epicatechin), 오르시놀(orcinol) 및 4-알릴페놀(4-allyphenol) 등이 있다[46].

정족수 감지 저해제(quorum sensing inhibitor, QSI)

정족수 감지(quorum sensing, QS)는 세균이 주변 세포의 밀도에 반응하여 세균의 행동 양식을 변화시키는 일종의 세포 간 신호전달체계를 말한다(Fig. 4). 즉, 세균은 주변 세포 밀도가 정족수에 도달하면 세포외신호분자인 autoinducer (AI)을 분비하여 정족수 감지를 통해 세포의 군집, 세포분화, 바이오필름 형성, 포자 형성 등을 조절한다[21, 33]. 그람음성세균의 AI에는 acetyl homoserine lactone(AHL)이 있고 그람양성세균의 AI에는 autoinducing peptide (AIP)이 있다[2, 9]. 그리고 autoinducer 2 (AI-2)는 그람음성과 그람양성 세균 모두에서 발견되는 AI이다[38]. 정족수 감지는 세균 군집 및 바이오필름의 성숙과 밀접하게 관련되어 있기 때문에[39, 40] 정족수 감지의 억제는 부유성 세포를 사멸시키지 않고 바이오필름 형성을 효과적으로 억제할 수 있는 방법이다. 따라서 최근에는 정족수 감지를 억제할 수 있는 정족수 감지 저해제(quorum sensing inhibitor, QSI)가 새로운 항생제로 제안되고 있다. 정족수 감지 저해 기전에는 AI 합성 억제, AI 가수분해, AI와 수용체의 결합 억제 등이 보고되어 있다. 이 중에서도 AI를 가수분해하여 정족수 감지를 억제하는 것을 정족수 감지 억제(quorum quenching, QQ)라 하며 정족수 감지 억제에 관여하는 효소에는 AHL acylase, AHL lactonases, oxidoreductase 등이 있다.

구강 박테리아, 특히 *S. mutans*의 AI에는 CSP와 AI-2가 있

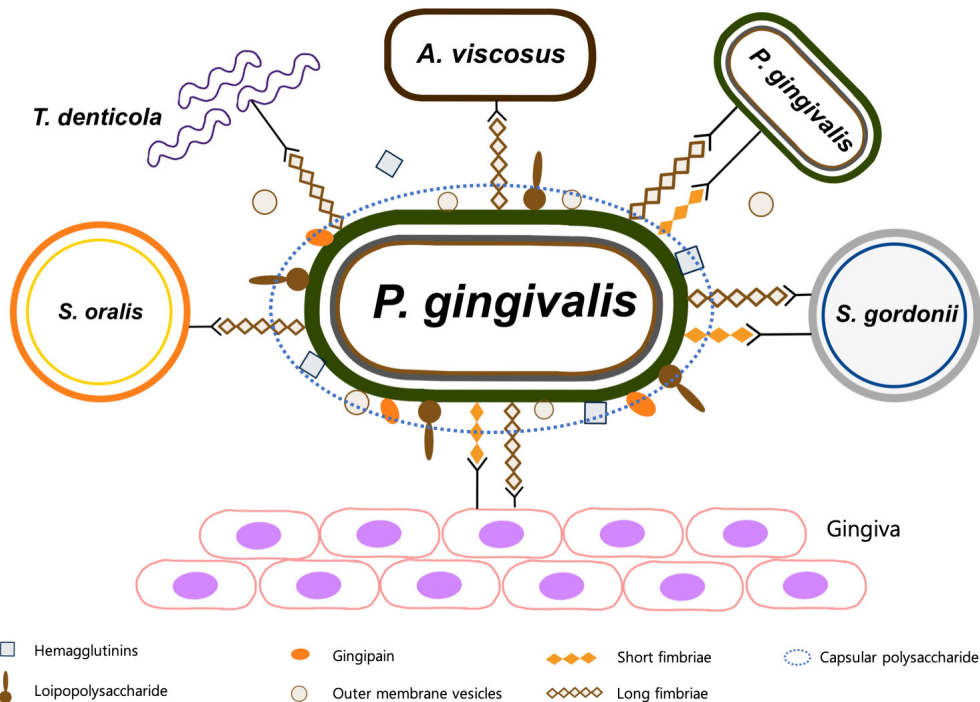


Fig. 3. The virulence factors of *Porphyromonas gingivalis*. *Porphyromonas gingivalis* produces fimbriae, capsules, lipopolysaccharide (LPS), lipoteichoic acids, haemagglutinins, gingipains and outer membrane proteins as a virulence factors. The main virulence factors of *P. gingivalis* is fimbriae which interacts with other bacteria in the oral biofilm.

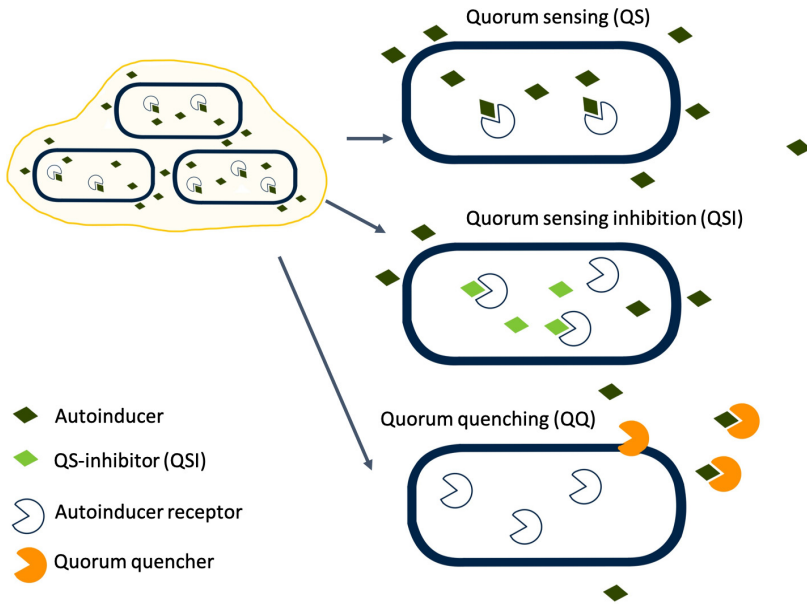


Fig. 4. The overview of the quorum sensing (QS), quorum sensing inhibition (QSI) and quorum quencher (QQ) [30].

다. CSP (ComC signal peptide)는 DNA 방출, competence, 박테리옌(bacteriocin) 생산, 환경적 스트레스에 대한 반응 및 바이오필름 형성을 조절한다[28]. 그러나 정족수 인지 억제 농도보다 높은 고농도의 CSP는 *S. mutans*를 사멸시키는 것으로 보고되었다[34]. AI-2는 그람 음성균과 그람 양성균 모두에서 발견되는 AI로서 *S. gordonii*와 *S. oralis* 및 *A. naeslundii*와 *S. oralis* 사이의 바이오필름 형성[49, 50], *A. actinomycetemcomitans* 또는 *S. intermedius*에 의한 바이오필름 형성과 관련이 있다[40]. 또한 AI-2는 다양한 구강 세균과 *F. nucleatum*의 응집에도 기여한다. *P. gingivalis*의 AI는 AHL인데 AHL 유사체는 *P. gingivalis*에 의해 형성된 바이오필름의 두께를 줄일 수 있고 *P. gingivalis*에 의해 형성된 바이오필름에 대한 오픈록사신(ofloxacin), 세푸록심(cefuroxime) 및 미노사이클린(minocycline)의 효능을 향상시킨 보고가 있다[23]. 따라서 정족수 감지 억제를 통한 바이오필름 형성 제어는 구강 미생물을 사멸시키지 않고 바이오필름의 구조를 해리시킬 수 있고 바이오필름 내부로 항생제를 확산시킬 수 있기 때문에 병원성 구강세균을 선택적으로 제어할 수 있는 방법이라고 생각된다.

Arginine에 의한 바이오필름 저해

탄수화물을 자주 섭취하면 구강 바이오필름에서 *S. mutans*를 비롯한 산 생성 세균이 우점하여 치아 법랑질 탈회가 촉진될 수 있는데 일부 구강 세균은 알칼리성 화합물을 생산하여 *S. mutans*에 의한 산성 스트레스에 대응할 수 있다[6]. 구강 세균 중 *S. sanguinis*, *S. gordonii*, *S. parasanguinis*, *S. intermedius*, *S. cristatus*, *S. australis*를 포함하는 Streptococci속, Lactobacillus 속, 일부 spirochetes는 오르니틴(ornithine), 암모니아, CO₂ 및 ATP를 생성하는 arginine deiminase system (ADS)를 발현하여 구강 바이오필름에서 알칼리 생성에 필요한 기질인

우레아(urea)와 아르기닌(arginine)을 생성한다[6, 7]. 따라서 아르기닌이 함유된 구강케어제품을 사용하면 치아우식증이 있는 치면 세균막에서 ADS 활성을 크게 증가시켜 구강 미생물의 분포를 건강한 치아와 유사한 세균 군집으로 전환시킬 수 있다[9, 10]. 건강한 치아에서는 주로 *S. sanguinis*가 발견되고 치아우식증이 있는 치면세균막에서는 *S. mutans*가 많이 발견되기 때문에 구강 바이오필름의 군집을 인위적으로 건강한 치아에 가깝게 전환시키면 치아우식증을 예방할 수 있을 것이다. 또한 아르기닌은 세균 증식, 병원성, 세포 응집 및 바이오필름 형성에 유효하며 특히 *S. mutans*의 외막에 있는 글루칸 생성을 억제하여 바이오필름의 바이오매스를 감소시키고 *S. mutans*가 치아 표면에 부착하는 것을 억제할 뿐만 아니라 물에 비수용성인 EPS분비를 감소시킴으로써 *S. mutans*의 바이오필름 형성을 억제할 수 있다[20]. 또, L- 아르기닌은 *S. mutans*의 생육을 억제하면서 건강한 치아에서 발견되는 *S. gordonii*를 풍부하게 하고 *P. gingivalis*와 *Prevotella oris*의 응집을 억제하여 바이오필름 억제효과가 있는 것으로 나타났다[16, 41]. 따라서 가용성이 높은 아르기닌은 바이오필름의 형성을 효과적으로 제어하여 병원성 구강 세균만을 선택적으로 제어할 수 있을 것으로 기대된다.

Glucosyltransferases 억제제

*S. mutans*는 glucosyltransferase (GTFase)를 분비하여 섭취된 음식물에 있는 탄수화물로부터 glucosyl 단위를 중합하여 비수용성 글루칸(glucan) 형성을 촉매하고[66] 이 비수용성 글루칸은 표면 단백질인 GbpA, GbpB, GbpC 및 GbpD과 결합하여 *S. mutans*을 치아 표면에 부착함으로써 치석을 형성하는데 이 과정을 sucrose-dependent pathway라고 한다[32, 37]. 치면 세균막에서 글루칸은 비수용성으로 조밀한 구조를 가지고

있기 때문에 구강 미생물에 의해 생성된 산을 확산시키거나 완충시키는 작용을 하는 타액이 치면 세균막 내부로 침투하는 것을 막아주는 장벽이 되고 생성된 산을 바이오 필름 내부에 정체시킴으로써 탈회 작용을 지속시켜 치아우식을 촉진하게 된다(Fig. 5).

*S. mutans*의 GTFase 억제제로는 폴리페놀 성분이 알려져 있으며 GTFase 억제 효과가 있는 대표적인 폴리페놀 성분으로는 biflorin, gallic acid, hydroxychavicol, isopanduratin, kaempferol, macelignan, methyl gallate, myricetin, panduratin, resveratrol, thymol, xanthorrhizol 등이 있다(Fig. 6) [8, 12, 14, 19, 22, 24]. Panduratin과 isopanduratin은 여러 종류의 구강 세균에 대해 강력한 활성을 가지는데 특히 *S. mutans*, *S. sanguis* 및 *A. viscosus*로 구성된 구강 바이오필름 형성을 억제하고 [39, 42] hydroxychavicol은 자당의 존재 하에서 부착성 *S. mutans*에 의한 바이오필름 형성을 효과적으로 억제하며[29] macelignan은 *S. mutans*, *S. sanguis* 및 *A. viscosus*의 단일 바이오필름 형성을 감소시킬 수 있다[45]. 또한, xanthorrhizol (XTZ)은 *S. mutans*의 바이오필름 형성 단계 중에서 부착 단계와 바이오필름 성숙 단계에 차별적으로 영향을 미치는 것으로 알려져 있는데 낮은 농도에서는 부착 단계에서 *S. mutans*의 바이오필름 형성을 완전히 억제하지만 높은 농도에서는 성숙한 바이오필름을 분산시킬 수 있다[36]. 폴리페놀 성분 중에서도 플라보노이드 계열인 biflorin, kaempferol, myricetin은 *S. mutans*에 의한 GTFase 및 산 생성을 억제할 수 있다[44, 45].

결론

구강 바이오필름의 제어는 구강 건강을 유지하는데 필수적

이고 치아 우식증과 치주 질환을 예방하는데 중요하다. 그러나 구강 바이오필름은 물리적인 방법으로 제어하기도 쉽지 않고 화학적인 방법으로 조절하기도 어렵다. 지금까지 구강 세균을 제어하기 위해 불소(fluoride), 트리클로산(triclosan), 알렉시딘(alexidine), 클로르헥시딘(chlorhexidine), 헥 세티딘(hexetidine), 염화벤잘코늄(benzalkonium chloride), 염화세틸피리디늄(cetylpyridinium chloride) 등이 치약이나 치아세정제에 사용되어왔지만 구강 세균은 바이오필름을 형성하고 있기 때문에 불소와 클로르헥시딘을 제외하고는 명백한 효과를 나타내는 효과적인 약제가 거의 없는 실정이다[23]. 따라서 구강 세균을 효과적으로 제어하기 위해서는 바이오필름 형성을 억제하거나 바이오필름으로 확산될 수 있는 항생제가 개발되어야 한다. 구강 바이오필름은 여러 세균이 모여서 바이오필름을 형성하는 특징을 가지고 있기 때문에 세포간의 신호전달체계인 정족수 감지는 구강 바이오필름을 제어할 수 있는 중요한 목표점이 될 수 있다. 특히 포유류에는 정족수 감지를 위한 AI가 없기 때문에 정족수 감지 저해제는 바이오필름을 형성하는 구강 세균에는 독성을 나타내지만 포유류에는 거의 독성을 나타내지 않는 선택적 독성을 가지고 있다. 구강 세균의 바이오필름을 제어하는 또다른 방법은 구강 세균의 알칼리 생성 기질인 아르기닌을 이용하여 구강 미생물의 분포 조성을 건강한 치아와 유사한 환경으로 바꾸는 것이다. 치아우식증의 원인균인 *S. mutans*가 증식하여 음식물로 섭취된 당류를 분해하여 젖산을 생성하고 이 산에 의해 치아 표면이 탈회되면서 바이오필름이 형성되기 때문에 치면 세균막이 아르기닌에 의해 알칼리성으로 바뀌면 치면 세균막의 우점 세균이 바뀌게 되고 따라서 바이오필름의 형성을 억제할 수 있다. 구강 바이오필름을 제어할 수 있는 또다른 방법은 *S. mutans*의 GTFase 분비를 억제하여 비수용성의 글루칸 형성을 제어하는 것이다.

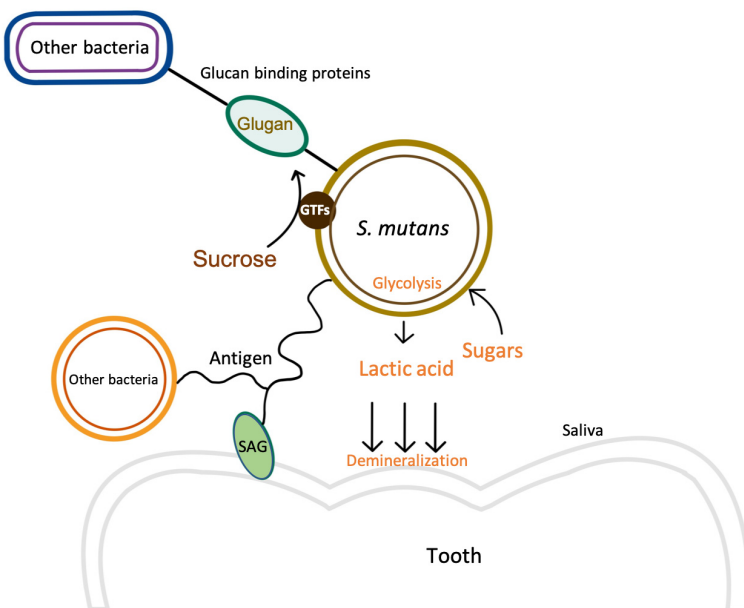


Fig. 5. The virulence factors of *Streptococcus mutans*. The main virulence factors of *Streptococcus mutans* is the production of acid from sugar and glucan from sucrose by glycosyltransferase as part of the oral biofilm that constitutes dental plaque. SAG, salivary agglutinin glycoprotein [38].

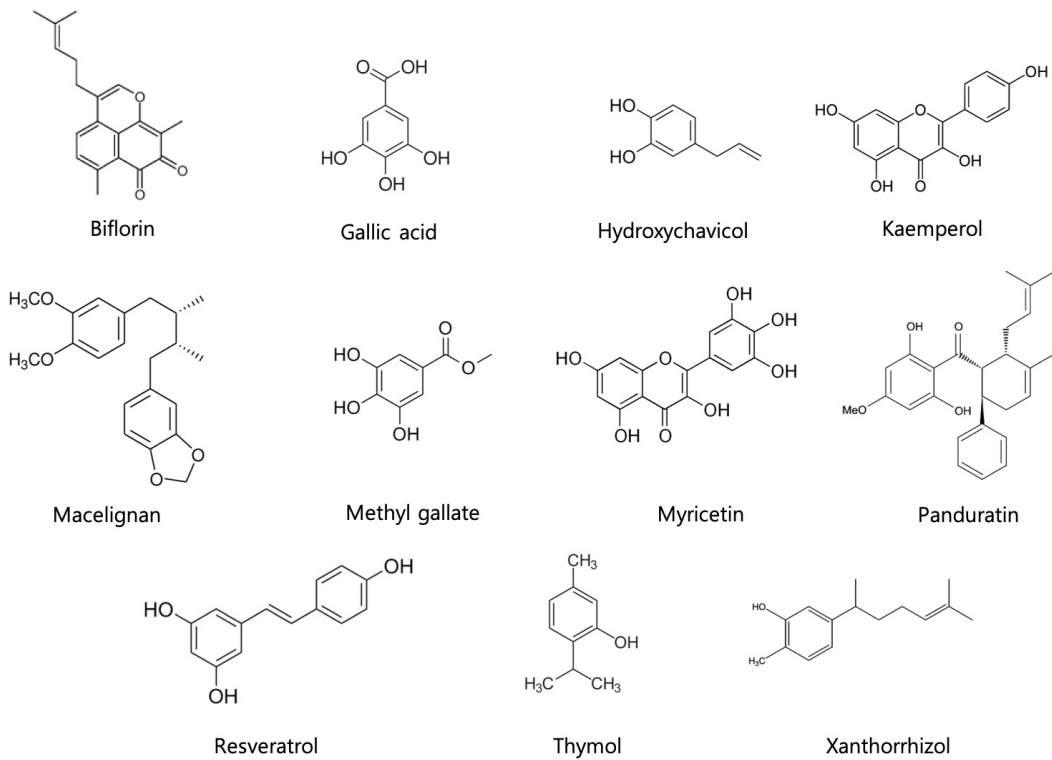


Fig. 6. The structure of polyphenolic compounds that inhibit the glucosyltransferase activity of *Streptococcus mutans*.

글루칸은 표면단백질과 결합하여 *S. mutans*를 치아 표면에 부착시킴으로써 치석을 형성하고 바이오필름 내부의 탈회를 지속시켜 치아우식을 촉진시키기 때문에 비수용성 글루칸 형성을 촉매하는 *S. mutans*의 GTFase 분비를 억제시키면 바이오필름 형성을 제어할 수 있다. 대표적인 GTFase저해제에는 biflorin, gallic acid, hydroxychavicol, isopanduratin, kaemperol, macelignan, methyl gallate, myricetin, panduratin, resveratrol, thymol, xanthorrhizol과 같은 폴리페놀류가 있다.

구강질환 중 세균성 감염질환의 성공적인 예방 및 치료는 구강 세균 중 구강 건강에 유익한 세균은 남겨두고 상대적으로 구강 건강에 해로운 세균만을 없애는 것이다. 따라서 구강질환의 원인균만을 선택적으로 제어하는 효과적인 방법으로써 구강 세균의 바이오필름 형성 억제는 필수적이다. 그러나 지금까지 바이오필름 제어와 관련된 대부분의 연구결과들은 시험관 내 또는 동물 실험에서 얻어진 결과들이기 때문에 치아우식증 및 치주염과 같이 다중 미생물 감염의 특성을 가진 질환에 이와같은 연구 결과들을 적용하기 위해서는 더 많은 연구가 필요하다. 또한 이러한 접근법과 항생제, 소독제, 물리적 방법 등의 병용은 바이오필름을 보다 효과적으로 제어할 수 있을 것으로 기대된다.

감사의 글

본 연구는 2020년 경남과학기술대학교 교원 연구활성화 지

원사업에 의해 수행된 결과의 일부이며 이에 감사드립니다.

The Conflict of Interest Statement

The authors declare that they have no conflicts of interest with the contents of this article.

References

1. Abiko, Y. and Saitoh, M. 2007. Salivary defensins and their importance in oral health and disease. *Curr. Pharm. Des.* **13**, 3065-3072.
2. Asahi, Y., Noiri, Y., Igarashi, J., Asai, H., Suga, H. and Ebisu, S. 2010. Effects of N-acyl homoserine lactone analogues on *Porphyromonas gingivalis* biofilm formation. *J. Periodont. Res.* **45**, 255-261.
3. Beikler, T. and Flemmig, T. F. 2011. Oral biofilm-associated diseases: Trends and implications for quality of life, systemic health and expenditures. *Periodontol.* **2000** **55**, 87-103.
4. Berger, D., Rakhmimova, A., Pollack, A. and Loewy, Z. 2018. Oral biofilms: development, control, and analysis. *High-Throughput* **7**, 24
5. Bowen, W. H., Burne, R. A., Wu, H. and Koo, H. 2018. Oral Biofilms: Pathogens, matrix, and polymicrobial interactions in microenvironments. *Trends Microbiol.* **26**, 229-242.
6. Burne, R. A. and Marquis, R. E. 2000. Alkali production by oral bacteria and protection against dental caries. *FEMS*

- Microbiol. Lett.* **193**, 1-6.
7. Chakraborty, B., Burne, R. A. and Liu, S. 2017. Effects of arginine on *Streptococcus mutans* growth, virulence gene expression, and stress tolerance. *Appl. Environ. Microbiol.* **83**, e00496-17.
 8. Chung, J. Y., Choo, J. H., Lee, M. H. and Hwang, J. K. 2006. Anticariogenic activity of macelignan isolated from *Myristica fragrans* (nutmeg) against *Streptococcus mutans*. *Phytomedicine* **13**, 261-266.
 9. Cuadra-Saenz, G., Rao D. L., Underwood, A. J., Belapure, S. A, Campagna, S. R., Sun, Z., Tammariello, S. and Rickard, A. H. 2012. Autoinducer-2 influences interactions amongst pioneer colonizing streptococci in oral biofilms. *Microbiology* **158**, 1783-1795.
 10. Darveau, R. P., Tanner, A. and Page, R. C. 1997. The microbial challenge in periodontitis. *Periodontol.* **2000** **14**, 12-32.
 11. Davies, D. 2003. Understanding biofilm resistance to antibacterial agents. *Nat. Rev. Drug Discov.* **2**, 114-122.
 12. Duarte, S., Gregoire, S., Singh, A. P., Vorsa, N., Schaich, K., Bowen, W. H. and Koo, H. 2006. Inhibitory effects of cranberry polyphenols on formation and acidogenicity of *Streptococcus mutans* biofilms. *FEMS Microbiol. Lett.* **257**, 50-56.
 13. Estrela, A. B., Heck, M. G. and Abraham, W. R. 2009. Novel approaches to control biofilm infections. *Curr. Med. Chem.* **16**, 1512-1530.
 14. Filoche, S. K., Soma, K. and Sissons, C. H. 2005. Antimicrobial effects of essential oils in combination with chlorhexidine digluconate. *Oral Microbiol. Immunol.* **20**, 221-225.
 15. Flemming, H. C., Wingender, J., Szewzyk, U., Steinberg, P., Rice, S. A. and Kjelleberg, S. 2016. Biofilms: an emergent form of bacterial life. *Nat. Rev. Microbiol.* **14**, 563-575.
 16. Geraldini, S., Soares, E. F., Alvarez, A. J., Farivar, T., Shields, R. C., Shinhoreti, M. A. C. and Nascimento, M. 2017. A new arginine- based dental adhesive system: formulation, mechanical and anti-caries properties. *J. Dent.* **63**, 72-80.
 17. Haffajee, A. D. and Socransky, S. S. 1994. Microbial etiological agents of destructive periodontal diseases. *Periodontol.* **2000.** **5**, 78-111.
 18. Hall-Stoodley, L. and Stoodley, P. 2002. Developmental regulation of microbial biofilms. *Curr. Opin. Biotechnol.* **13**, 228-233.
 19. Han, S. M., Hong, I. P., Woo, S. O., Park, K. K. and Chang, Y. C. 2016. Anticariogenic activity purified bee venom (*Apis mellifera* L.) against four cariogenic bacteria. *Kor. J. Pharmacogn.* **47**, 43-48.
 20. He, J., Hwang, G., Liu, Y., Gao, L., Kilpatrick-Liverman, L. T., Santarpia, P., Zhou, X. and Koo, H. 2016. L-arginine modifies the exopolysaccharide matrix and thwarts *Streptococcus mutans* outgrowth within mixed-species oral biofilms. *J. Bacteriol.* **198**, 2651-2661.
 21. Hooshangi, S. and Bentley, W. E. 2008. From unicellular properties to multicellular behavior: bacteria quorum sensing circuitry and applications. *Curr. Opin. Biotechnol.* **19**, 550-555.
 22. Islam, B., Khan, S. N., Haque, I., Alam, M., Mushfiq, M. and Khan, A. U. 2008. Novel anti-adherence activity of mulberry leaves: Inhibition of *Streptococcus mutans* biofilm by 1-deoxy-nojirimycin isolated from *Morus alba*. *J. Antimicrob. Chemother.* **62**, 751-757.
 23. Jones, C. G. 1997. Chlorhexidine: Is it still the gold standard? *Periodontol.* **2000** **15**, 55-56.
 24. Kang, M. S., Oh, J. S., Kang, I. C., Hong, S. J. and Choi, C. H. 2008. Inhibitory effect of methyl gallate and gallic acid on oral bacteria. *J. Microbiol.* **46**, 744-750.
 25. Kwon, H. J., Parkm J. W., Yoon, M. S., Chung, S. K. and Han, M. D. 2008. Dental hygiene and dental education: Factors associated with self-reported halitosis in Korean patients. *J. Kor. Acad. Oral Health* **32**, 231-242.
 26. Liljemark, W. F. and Bloomquist, C. 2016. Human oral microbial ecology and dental caries and periodontal diseases. *Crit. Rev. Oral Biol. Med.* **7**, 180-198.
 27. Li, Y. H., Lau, P. C., Lee, J. H., Ellen, R. P. and Cvitkovitch, D. G. 2001. Natural genetic transformation of *Streptococcus mutans* growing in biofilms. *J. Bacteriol.* **183**, 897-908.
 28. Li, Y. H., Tang, N., Aspiras, M. B., Lau, P. C. Y., Lee, J. H., Ellen, R. P. and Cvitkovitch, D. G. 2002. A quorum-sensing signaling system essential for genetic competence in *Streptococcus mutans* is involved in biofilm formation. *J. Bacteriol.* **184**, 2699-2708.
 29. Loo, W. T. Y., Jin, L. J., Cheung, M. N. B. and Chow, L. W. C. 2010. Evaluation of ellagic acid on the activities of oral bacteria with the use of adenosine triphosphate (ATP) bioluminescence assay. *Afr. J. Biotechnol.* **9**, 3938-3943.
 30. Skogman, M. E., Kanerva S., Manner, S., Vuorela, P. M. and Fallarero, A. Flavones as quorum sensing inhibitors identified by a newly optimized screening platform using *Chromobacterium violaceum* as reporter bacteria. *Molecules* **21**, 1211.
 31. Nagano, K., Abiko, Y., Yoshida, Y. and Yoshimura, F. 2012. *Porphyromonas gingivalis* *fimA* fimbriae: roles of the *fim* gene cluster in the fimbrial assembly and antigenic heterogeneity among *fimA* genotypes. *J. Oral Biosci.* **54**, 160-163.
 32. Nakahara, K., Kawabata, S., Ono, H., Ogura, K., Tanaka, T., Ooshima, T. and Hamada, S. 1993. Inhibitory effect of oolong tea polyphenols on glycosyltransferases of mutans Streptococci. *Appl. Environ. Microbiol.* **59**, 968-973.
 33. Noiri, Y., Ehara, A., Kawahara, T., Takemura, N. and Ebisu, S. 2002. Participation of bacterial biofilms in refractory and chronic periapical periodontitis. *J. Endod.* **28**, 679-683.
 34. Novick, R. P. and Geisinger, E. 2008. Quorum sensing in *Staphylococci*. *Annu. Rev. Genet.* **42**, 541-564.
 35. Rabin, N., Zheng, Y., Opoku-Temeng, C., Du, Y., Bonsu, E. and Sintim, H. O. 2015a. Biofilm formation mechanisms and targets for developing anti-biofilm agents. *Future Med. Chem.* **7**, 493-512
 36. Rukayadi, Y. and Hwang, J. K. 2006. *In vitro* activity of xanthorrhizol against *Streptococcus mutans* biofilms. *Lett. Appl. Microbiol.* **42**, 400-404.
 37. Russell, R. R. 1979. Glucan-binding proteins of *Streptococcus mutans* serotype c. *J. Gen. Microbiol.* **112**, 197-201.
 38. Sadekuzzaman, M., Yang, S., Mizan, M. F. R. and Ha, S.

- D. 2015. Current and recent advanced strategies for combating biofilms. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* **14**, 491-509.
39. Sato, Y., Yamamoto, Y. and Kizaki, H. 1997. Cloning and sequence analysis of the gbpC gene encoding a novel glucan-binding protein of *Streptococcus mutans*. *Infect. Immun.* **65**, 668-675.
40. Shadia, M. A. and Aeron, A. 2014. Bacterial biofilm: dispersal and inhibition strategies. *SAJ Biotechnol.* **1**, 105.
41. Sharma, S., Lavender, S., Woo, J. R., Guo, L., Shi, W., Kilpatrick-Liverman, L. and Gimzewski, J. K. 2014. Nanoscale characterization of effect of L-arginine on *Streptococcus mutans* biofilm adhesion by atomic force microscopy. *Microbiology* **160**, 1466-1473.
42. Tsumori, H. and Kuramitsu, H. 1997. The role of the *Streptococcus mutans* glucosyltransferases in the sucrose-dependent attachment to smooth surfaces: Essential role of the gtfC enzyme. *Oral Microbiol. Immunol.* **12**, 274-280.
43. Whitmore, S. E. and Lamont, R. J. 2014. Oral bacteria and cancer. *PLoS Pathog.* **10**, e1003933.
44. Yanti, Rukayadi, Y., Kim, K. H. and Hwang, J. K. 2008. *In vitro* anti-biofilm activity of macelignan isolated from *Myristica fragrans* Houtt. against oral primary colonizer bacteria. *Phytother. Res.* **22**, 308-312.
45. Yanti, Rukayadi, Y., Lee, K. H. and Hwang, J. K. 2009. Activity of panduratin A isolated from *Kaempferia pandurata* Roxb. against multi-species oral biofilms *in vitro*. *J. Oral Sci.* **51**, 87-95.
46. Murakami, Y., Kawata, A., Ito, S., Katayama, T. and Fujisawa, S. 2015. The radical scavenging activity and cytotoxicity of resveratrol, orcinol and 4-allylphenol and their inhibitory effects on Cox-2 gene expression and Nf-kb activation in RAW 264.7 cells stimulated with *Porphyromonas gingivalis*-fimbriae. *In Vivo* **34**, 81-94.

초록 : 바이오필름을 생성하는 병원성 구강 세균을 제어하는 새로운 접근법

조수정*

(경남과학기술대학교 제약공학과)

구강에는 700여 종의 미생물이 부유성 세균(planktonic cells)으로 있거나 치아 표면에 부착하여 바이오필름(biofilms)을 형성하고 있으며 구강 바이오필름(oral biofilms)과 관련된 대표적인 구강질환에는 치아우식증과 치주질환이 있다. 구강 세균은 타액의 흐름, 숙주의 항균 단백질, 영양소의 가용성 및 pH 변화, 항생제, 방부제 등의 영향을 받고 있지만 바이오필름이 형성되면 바이오필름은 물리적으로 두꺼운 층을 이루고 있기 때문에 구강 세균은 이와 같은 구강 내부의 환경적 스트레스에 저항할 수 있을 뿐만 아니라 외부 물질의 침투가 어렵고 바이오필름 내 세포간 상호작용을 통해 유전자 변이가 일어나기 때문에 부유성 세균보다 항생제에 대한 저항성이 1,000배 정도 높다. 따라서 구강 세균의 바이오필름 형성을 억제하거나 제거하면 보다 효과적으로 세균 감염에 의한 구강질환을 예방하거나 치료할 수 있을 것이다. 특히 구강 바이오필름은 여러 세균이 모여서 바이오필름을 형성하는 특징을 가지고 있기 때문에 세포간 신호전달체계인 정족수 감지(quorum sensing)는 구강 바이오필름을 제어할 수 있는 목표점이 될 수 있다. 이외에도 구강세균의 알칼리 생성 기질인 아르기닌을 이용하여 구강 미생물의 분포를 건강한 치아와 유사한 환경으로 전환하거나 *S. mutans*의 glucosyltransferase 분비를 억제하여 비수용성의 글루칸 형성을 억제함으로써 바이오필름 형성을 억제하는 방법도 구강 바이오필름을 제어할 수 있는 목표점이 될 수 있다. 이처럼 구강 내 병원성 세균의 사멸을 유도하기 보다는 구강 세균의 바이오필름 형성을 억제하거나 제거하는 방법은 치아우식증을 비롯한 구강질환을 선택적으로 예방하거나 치료할 수 있는 새로운 전략이 될 것이다.