



## 저작자표시-비영리-변경금지 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.



비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.



변경금지. 귀하는 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공할 수 없습니다.

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

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

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

[Disclaimer](#)

치의학석사 학위논문

치아우식증의 경구 미생물군  
조작치료에 대한 고찰

2015 년 2 월

서울대학교 치의학대학원

치의학과

김 민 규

# 치아우식증의 경구 미생물군 조작치료에 대한 고찰

지도교수 민 병 무

이 논문을 치의학석사 학위논문으로 제출함

2014 년 10 월

서울대학교 치의학대학원

치위학과

김민규

김민규의 석사학위논문을 인준함

2015 년 2 월

위 원 장                      프랭크홍유                      (인)

부 위 원 장                      민 병 무                      (인)

위 원 노 상 호 (인)

## 국문 초록

치아우식증은 세계적으로 가장 흔한 만성적인 질환이다. 치아우식증은 구강 내 통증과 치아 상실에 있어서 주요한 원인으로 경제적 부담이 매우 큰 질환이다. 이미 치아우식증이 발생한 경우에는 우식병소 부위를 제거하고 아말감, 레진, 금 등의 인공적인 재료로 수복하는 수복치료를 시행한다. 수복치료는 치아우식증을 유발하는 병원성 세균에 대한 치료가 아니기 때문에 이차 치아우식증이 발생할 위험이 항상 존재하게 된다. 따라서 본 종설에서는 향후 치아우식증의 치료방법으로 이용될 수 있는 oral microbiota modification therapy에 대해 고찰해보고자 한다.

Prebiotics는 특정한 미생물이나 미생물군의 성장이나 활동을 선택적으로 조절해 숙주의 건강에 이로움을 가져다 주는 난소화성 식품요소로 정의할 수 있다. 이러한 prebiotics는 치아우식증에 대한 치료방법으로 기대되지만 현재까지는 주로 위장관 질환을 중심으로 연구가 되었고, 치아우식증에 대한 연구는 거의 없는 실정이다. 따라서 많은 연구가 필요하다. Probiotics는 체내에 적절한 수준으로 들어왔을 때 건강에 이로운 microorganism을 말한다. 치아우식증에 대한 연구에서도 probiotics를 이용할 경우 구강 내 *S. mutans*와 치아우식증이 감소한 결과가 나왔다. 치아우식증 외에도 치주질환이나, 구취, 곰팡이 감염 질환에서도 probiotics가 치료방법으로 이용될 가능성을 보여주는 연구도 있었다. 실제 임상에서 치료방법으로 이용되려면 앞으로 probiotics 세균의 안전성, 구강 내로 효과적으로 도입하는 방법등에 대한 연구가 필요할 것이다. Replacement therapy는 병원성이 없는 *S. mutans* 돌연변이를 이용하여 치아우식증의 주요 유발세균인 병원성 *S. mutans*를 억제하는 치료

법이다. 현재 활발히 연구되고 있는 effector strain은 BCS3-L1 strain으로 유전공학 기법을 이용해 세균에서 산을 생성하는 lactate dehydrogenase를 없애는 방식으로 만들어졌다. 이 strain을 이용한 in vitro 실험이나 동물실험에서 치아우식증을 감소하는 결과를 보여주었다. 앞으로 replacement therapy가 실제 치료방법으로 이용되기 위해서는 더 많은 effector strain이 개발되고, 그에 따른 안전성도 충분히 검증되어야 할 것이다. 이처럼 치아우식증에 대한 oral microbiota modification therapy는 여러 연구에서 그 가능성을 보여주고 있지만 실제 치료방법으로 적용되기까지는 많은 연구가 필요할 것으로 보인다.

주요어 : 치아우식증, mutans Streptococci, *Streptococcus mutans*, probiotics, replacement therapy, prebiotics

학번 : 2011-22418

# 목 차

제 1 장 서론 .....	5
제 2 장 본론 .....	8
제 1 절 치아우식증 (Dental caries) .....	8
1. 치아우식증의 병인론 .....	8
제 2 절 <i>Streptococcus mutans</i> .....	10
1. <i>Streptococcus mutans</i> 의 부착 .....	11
1.1 Sucrose-dependent 부착 .....	12
2. <i>Streptococcus mutans</i> 의 acidogenecity .....	13
제 3 절 Prebiotics와 치아우식증 .....	13
제 4 절 Probiotics와 치아우식증 .....	15
1. Probiotics의 정의 .....	17
2. Probiotics의 기전 .....	18
3. Probiotics의 임상적 및 실험적 연구 .....	19
4. Probiotics와 다른 구강질환 .....	23
5. Probiotics의 안전성 .....	24

제 5 절 Replacement therapy와 치아우식증 .....	26
1. Replacement therapy의 원리 .....	27
2. 치아우식증과 관련된 replacement therapy 연구 ..	29
3. Replacement therapy의 장점과 안전성 .....	33
 제 3 장 결 론 .....	 36
 참 고 문 헌 .....	 39
 Abstract .....	 49

## 제 1 장 서론

치아우식증은 치주질환과 더불어 세계적으로 가장 흔한 만성적인 질환이다. 치아우식증은 치아 조직의 일부가 용해되고 파괴되는 감염성질환으로 이는 선사시대 이전부터 인간에게 존재하였다고 한다[1]. 근대 사회에 접어들면서 식생활의 변화와 맞물려 발생률이 범세계적으로 급격히 증가하였으며 현대사회에 이르러서도 유병률은 매우 높은 것으로 알려져 있다. 그리고 치아우식증은 사회적인 부담도 막대한 실정이다[2, 3].

치아우식증은 구강 내 통증과 치아 상실에 있어서 주요한 원인이다. 치아우식증의 큰 문제는, 치아우식증으로 파괴된 치아조직은 재생되지 않는다는 점이다. 일반적으로 치아우식증을 방치하면 치질의 파괴가 치수까지 이르러 치수염을 유발하게 되고, 치근단과 치조골까지 파괴시켜 결국에는 치아를 발거하게 된다. 이러한 임상경과가 진행될수록, 저작력이 약화되며 궁극적으로는 영양결핍이 초래된다. 이뿐만 아니라 치아우식증은 동통이라는 문제를 야기하며 이는 개인의 삶의 질을 악화시키는 문제로 이어진다[4].

유병률이 높고 질병부담이 큰 만큼, 치아우식증에 대한 연구는 활발하게 이루어져 왔다. 치아우식증을 발생시키는 요인으로 우식유발 미생물, 타액분비와 완충능력의 이상, 우식성 식품의 섭취 등을 들 수 있다[5]. 치아우식증은 구강 내 치태에 존재하는 세균에 의해 치아의 법랑질, 상아질과 같은 경조직이 탈회되는 감염성 질환으로, 주 원인세균은



mutans Streptococci로 알려져 있다[6]. 지금까지 연구된 다양한 동물 실험과 역학조사에서 mutans Streptococci는 치아우식증 발병에 큰 역할을 한다고 밝혀졌다. 그리고 많이 진행된 치아우식 부위에서 mutans Streptococci가 많이 나타나는데, 이것은 치아우식증 진행에도 mutans Streptococci가 큰 역할을 하는 것으로 볼 수 있다[7, 8].

Mutans Streptococci는 생리적, 생화학적 특성이 서로 다른 이중성 세균군으로 8개의 혈청형으로 구성되어 있다[9]. Mutans Streptococci는 glycosyltransferases(GTFs)를 이용하여 당을 원료로 세포외 불용성 다당체인 glucan을 형성한다. 이를 이용하여 치아표면에 부착한 후 biofilm을 형성하고 산을 생성하여 치아우식증을 일으킨다[10]. 이러한 기전을 가지는 mutans Streptococci에 대한 많은 연구가 진행되고 있다.

현재 임상에서 치아우식증에 대한 예방적 치료로는 불소 도포, 구강위생관리, sealant 등이 있다. 이미 치아우식증이 발생한 경우에는 보통 우식병소 부위를 제거하고 아말감, 레진, 금 등의 인공적인 재료로 수복하는 수복치료를 한다[11]. 이러한 치료들은 symptomatic treatment로서 원인균에 대한 근본적인 therapeutic treatment가 아니며 치료 후 이차 치아우식증이 발생할 수 있는 위험성이 존재한다.

이러한 한계점이 대두되면서 현재 치아우식증에 대한 효과적인 치료방법에 대해 다각도로 연구가 진행되고 있다. 우선 치아우식증 발생의 주요한 원인세균인 *S. mutans*를 대상으로 한 caries vaccine, probiotics 등 bacteriotherapy에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다[12]. 그리고 post-genomic시대에 들어오면서 재조합 DNA 기술 등을 바탕으로 한

연구도 발표되고 있다. 유전공학 기법을 사용하여 병원성이 없는 *S. mutans*를 만들어 병원성 *S. mutans*의 집락 형성과 성장을 막는 replacement therapy에 대해서도 많은 연구가 진행되고 있다. 따라서 본 연구에서는 oral microbiota modification therapy에 대한 연구 현황과 실용 가능성에 대해 논의해 볼 것이다.

## 제 2 장 본론

### 제 1 절 치아우식증 (Dental caries)

치아우식증이란 용어는 치아우식증의 발생과정이나 발생과정의 결과로서 형성되는 우식병소에 사용한다[13, 14]. 일상적으로 섭취하는 탄수화물이 구강 내 세균에 의해 발효되어 생성된 유기산(organic acid)에 의해 치아경조직이 국소적으로 파괴됨으로써 치아우식증이 발생한다[15]. 치아우식증은 대부분의 사람에서 천천히 진행되는 만성적인 질병으로 우식병소는 오랜시간 동안 진행되어온 결과물이다[13]. 주로 영구치나 유치의 치관이나 치근 부위에서 치아우식증이 발견된다[16].

#### 1. 치아우식증의 병인론

치아우식증은 산을 생성하는 세균, 산생성세균이 대사할 수 있는 기질, 치아나 타액 같은 숙주요인 간의 상호작용에 의해 발생한다. 치아우식증을 발생시키는 원인세균들은 구강 내에서 다당류, 세포에서 분비된 DNA나 단백질로 구성된 유기적 기질로 둘러싸인 미세집락을 형성하며 생활하고 있다. 이러한 기질들은 항생물질이나 숙주의 방어작용으로부터 치아우식증을 유발하는 세균들을 보호하는 역할을 한다[17].

모든 형태의 치아우식증에 있어서 치아우식증이 발생하는 기전은 비슷하다. 구강 내 biofilm에 존재하는 세균이 섭취한 탄수화물을 대사하여 유기산을 생산한다. 치아우식증을 발생시키는 주요 원인세균에는 Lactobacilli와 mutans Streptococci에 속하는 *S. mutans*와 *S. sobrinus*가 있다. 이 세균들은 발효과정을 통해 섭취한 탄수화물을 젖산으로 대사한다[18]. 세균의 대사작용으로 생성된 유기산에 의해 치아 주변의 국소적 pH가 감소한다. pH가 임계 값 아래로 내려가면 치아경조직에서 칼슘과 인 등의 미네랄이 용해되어 나오는 탈회 발생한다. 이러한 탈회 현상이 중지되거나 역전되지 않고 지속되면 치아경조직에서 칼슘, 인 등이 계속 확산되어 빠져나간다. 이러한 탈회현상이 오랜기간 동안 지속될 경우 우식병소가 형성된다[19, 20].

치아우식증 발생에 있어서 구강 내 biofilm이 중요한 역할을 한다. 구강 내 biofilm이 성숙되고 오랜기간 존재하는 경우 치아우식증이 더 많이 발생할 것이다. 치아우식증이 심해져 치아우식병소가 형성된 경우에는 환자 스스로 biofilm을 제거하기가 어렵게 되며, 산을 생성하는 세균들에게 생태학적 기생장소를 제공하게 되어 치아우식증을 더 심화시킨다[14].

초기 치아우식증의 탈회과정은 가역적이다. 칼슘, 인, 불소를 흡수하여 가역적인 과정이 일어날 수 있다. 불소는 칼슘과 인이 치아로 흡수되는 것을 촉매하는 역할을 할 수 있다. 이러한 흡수는 치아경조직 병소에서 결정을 재석회화 시킨다. Fluoridated hydroxyapatite나 fluoapatite로 구성된 결정구조는 본래의 결정구조보다 산성물질에 더 저항성을 가진다

[21, 22]. 치아우식증이 더 진행되거나 멈추거나 회복되거나 하는 현상은 치아경조직의 탈회 과정과 재석회화 과정 간의 균형에 의해서 조절된다. pH가 낮을 경우에는 치아경조직의 탈회가 지속되어 치아우식증이 심해지고, 타액 등에 의해 pH가 회복된 경우에는 재석회화 과정이 일어나서 손상되었던 치아경조직이 회복된다[23].

## 제 2 절 *Streptococcus mutans*

1924년 Clarke는 사람의 치태에 대한 미생물학적 연구에서 oral Streptococci를 발견하였다. 1960년 Keyes가 gnotobiotic rodents를 가지고 한 실험에서도 oral Streptococci를 발견할 수 있었다. 그는 germ-free 햄스터를 caries-active 햄스터와 함께 사육하였을 경우 germ-free 햄스터에서도 치아우식증이 발생하는 것을 관찰할 수 있었다. 이후로 여러 epidemiological data를 통해 치아우식증을 발생시키는 주요한 원인세균이 mutans Streptococci로 밝혀졌다[24].

Mutans Streptococci는 세포벽에 존재하는 carbohydrate antigens에 따라 8가지 혈청형(serotype a-h)이 존재한다. 혈청형 a,d,g형은 antigens이 포도당, galactose, rhamnose로 구성되고, b형은 galactose와 rhamnose로 구성된다. 그리고 c,e,f형은 포도당과 rhamnose로 구성된다[25]. 또한 유전적 차이에 따라 7종류의 세균종으로 분리가 된다[26]. 7종류 세균종에는 *S. mutans*, *S. rattus*, *S. cricetus*, *S. sorbinus*, *S. ferus*, *S. macacae*, *S. downei*가 존재한다. *S. ferus*를 제외하고 6가지 세균종

은 치아우식증을 유발시킬 능력을 가지고 있다[27]. Mutans Streptococci 중에 *S. mutans*와 *S. sobrinus*가 사람의 치아우식증과 가장 관련이 깊다고 알려져 있다. *S. mutans*가 사람에서 제일 많이 발견되고 *S. sobrinus*가 두 번째로 많이 발견된다. *S. mutans*가 *S. sobrinus*보다 더 강한 치아우식증 유발 능력을 가지고 있는데 이것은 *S. mutans*가 특정한 세포표면 단백질을 가지고 있어 치아부착에 유리하기 때문이다. *S. sobrinus*의 경우에는 이러한 단백질을 가지고 있지 않다[7].

치아우식증을 예방하는데 있어서 구강 내에서 mutans Streptococci의 전파와 집락화를 이해하는 것은 중요하다. Chromosomal DNA-finger printing techniques를 이용한 연구들에 의하면 대부분 어린 시기에 어머니로부터 mutans Streptococci를 전달 받는다고 한다[28-30]. 어머니로부터의 mutans Streptococci 획득은 주로 생후 19~31개월 사이에 발생하는데 이 기간을 window of infectivity라고 부른다. 한 연구에서는 이 시기에 어린아이 구강 내에 mutans Streptococci 조성이 25%에서 75%로 증가되었다[31].

## 2. *Streptococcus mutans*의 부착

치태에서 *S. mutans*가 부착하는 방법에는 sucrose-independent 부착과 sucrose-dependent 부착을 이용한다. *S. mutans*가 치아표면에 부착되어 집락을 형성하는 데는 주로 sucrose-independent 부착을 이용한다[32]. *S. mutans*가 설탕으로부터 glucan을 생성해 부착 효율이 증가하

고, 집락형성에 도움을 준다[33].

## 2.1. Sucrose-dependent 부착

Sucrose-dependent 부착은 glucosyltransferases (GTFs)에 의해 glucan이 생성되며 시작된다. GTFs는 sucrase 활성을 지니고 있어 설탕을 포도당과 과당으로 분해하고 포도당을 이용하여 포도당의 중합체인 glucan을 생성하도록 한다. *S. mutans*는 3종류의 GTFs를 지니고 있다[34]. GTFs는 수용성, 불용성 glucan을 생성한다. 수용성 glucan은  $\alpha$ -1,6-glycosidic linkages를 지니는 중합체이다. 불용성 glucan은  $\alpha$ -1,3-linkages를 가지고 있고, 곁가지가 많은 구조를 가진다. 두 가지 glucan이 모두 치아우식증 발생에 중요한 역할을 하는데 수용성 glucan의 경우 치아의 평활면에서 발생하는 치아우식증에 더 중요한 역할을 한다고 밝혀졌다[35].

Glucan은 획득피막과 세균에 대한 수소결합을 이용하여 *S. mutans*의 부착이 잘 일어나도록 한다[36]. 그리고 *S. mutans*는 3가지 glucan-binding proteins (Gbps)인 GbpA, GbpB, GbpC를 생산한다. 이러한 단백질들은 sucrose-dependent 부착에 도움을 준다[37]. 그리고 *S. mutans*은 glucan 생성뿐만 아니라 fructosyltransferases를 이용하여 fructan도 생성한다[38]. Fructan은 세포외 저장고 역할을 하는 것으로 여겨지고 있다. 그리고 몇몇 연구에서는 치태 형성에도 도움을 준다고 밝혀냈다[39, 40].

## 2.2 *Streptococcus mutans*의 acidogenecity

*S. mutans*는 해당과정을 통해서 젖산, 포름산, 아세트산, 에탄올 등을 생산한다[41]. 탄수화물 공급이 중단되었을 경우에는 포름산, 아세트산, 에탄올을 생산하지만 탄수화물이 공급될 경우에는 lactate dehydrogenase에 의해 주로 젖산을 생산한다[42, 43]. *S. mutans*가 생산하는 젖산은 치아우식증을 발생시키는 중요한 유기산이다. Lactate dehydrogenase가 결핍된 세균에서는 치아우식증 발생능력이 감소된다[44].

## 제 3 절 Prebiotics와 치아우식증

Prebiotic은 장내 미생물총을 조절하려는 대안적인 방법으로 1995년에 Gibson과 Roberfroid에 의해 소개되었다. Prebiotics는 특정한 미생물이나 미생물군의 성장이나 활동을 선택적으로 조절해 숙주의 건강에 이로운 영향을 가져다 주는 난소화성 식품요소로 정의할 수 있다[45].

Prebiotic은 소화 기관에서 소화되지 않고, 결장 내 미생물에 의해서 대사가 된다. 즉 prebiotic은 미생물의 주요 에너지원으로써 사용되어 숙주에 이로운 세균을 선택적으로 성장시킨다. 현재 연구가 된 prebiotics로 이당류, 올리고당, resistant starch 등이 있다[45]. 여러 연구에서 prebiotics인 inulin과 올리고당의 경우 사람의 장내에서 선택적



으로 Bifidobacteria와 Lactobacilli를 성장시킴으로써 건강에 도움을 준다고 하였다[46].

그 동안 종양이나 intestinal bowel disease 등에 대한 prebiotics의 효과에 관한 연구는 많이 진행되었으나 구강건강에 대한 연구는 거의 없었다. 하지만 치아우식증과 같은 구강질병에 대해서도 prebiotics가 효과적으로 작용할 것이라 생각할 수 있다. 이러한 작용은 2가지 기전에 의해서 일어날 수 있을 것으로 예측된다.

첫 번째 기전은 prebiotics인 올리고당이 직접적으로 구강 내 biofilm의 생성과 대사에 작용하는 것이다. 결장에서 올리고당은 결장 점막 biofilm에 Bifidobacteria와 Lactobacilli를 증가시킨다. 증가된 Bifidobacteria와 Lactobacilli은 항미생물성 물질을 생성함으로써 병원성 세균의 집락을 형성하는 것을 억제한다. 이와 같은 비슷한 효과가 구강 내 biofilm에서도 작용할 것으로 생각된다[47]. 치아우식증 역시 세균에 의한 감염성 질환이므로 prebiotics가 효과가 있을 것으로 예측된다. 두 번째로 결장에서와 비슷하게 구강에서도 prebiotics에 의해 면역조절작용이 일어나 구강질병에 대해서도 유익한 효과를 나타낼 것으로 예상된다. 결장에서 inulin, 올리고당과 같은 prebiotics는 직접 숙주의 면역에 영향을 끼치지 않는 못한다. 하지만 장내 세균조성을 변화시켜 gut-associated immune과 전신적 면역조절에 영향을 준다. 이처럼 구강 내에서도 결장에서와 비슷하게 세균 조성의 변화를 통해 면역작용에 영향을 끼칠 것이다[48].

위와 같이 2가지 기전으로 치아우식증과 같은 구강질병에 대해서도

prebiotics가 효과가 있을 것이라 생각되지만 현재까지 구강건강에 대한 연구는 미비한 실정이다. 따라서 치아우식증 치료에 prebiotics가 적용되기 위해서는 많은 연구가 필요할 것이다.

## 제 4 절 Probiotics와 치아우식증

1928년 영국의 세균학자 Alexander Fleming에 의해 페니실린이 발견된 이래로 감염성 질환의 치료에 있어서 항생제는 큰 역할을 해왔다. 하지만 최근 들어 항생제 오남용으로 인해서 기존의 항생제에 내성을 갖는 균주가 출현하여 감염성 질환의 새로운 치료방법을 찾아야 하는 상황이다. 이로 인해 심각한 위장관계질환을 가진 환자에게 위장관내 세균성 환경을 조절해 치료하기 위해 건강한 사람의 장내 세균을 적용하는 방법과 같은 bacteriotherapy가 감염성 질환의 혁신적인 치료방법으로 대두되고 있다. Bacteriotherapy는 사람의 건강에 무해한 미생물을 이용하여 질병을 발생시키는 병원성 미생물을 억제하는 방법으로 감염성 질환을 치료하는데 있어서 기존의 항생제 치료방법을 대체할 수 있는 유망한 치료방법으로 관심을 받고 있다[49].

1970년대 노벨상 수상자인 러시아 과학자 Elie Mechnikoff는 1900년도 초기에 특정 불가리아 사람들이 질병의 고통 없이 오래 사는 것을 발견하였다. Elie Mechnikoff가 관찰해본 결과 특정 불가리아 사람들이 질병 없이 장수하는 것은 그들이 평소에 먹는 식단과 관계가 있음을 발견할 수 있었다. 불가리아 사람들이 먹는 식품에는 우유, 빵, 치즈 등 발효

식품이 많았는데 Elie Mechnikoff는 이러한 발효식품에 건강에 이로운 세균들이 존재한다는 것을 발견하였다[50].

1984년에 Hul에 의해 첫 번째로 *Lactobacillus acidophilus*가 발견되었고, 그 다음에 Holcomb에 의해 *Bifidobacterium bifidum*이 발견되었다[51]. 이후로 Probiotics 세균으로 주로 Lactobacilli와 Bifidobacteria, *Saccharomyces spp.*가 사용되어 왔다. 하지만 특정한 상황에서 몇몇의 Streptococci, Enterococci와 commensal *Escherichia coli*도 probiotics 세균으로써 건강에 이롭게 사용될 수 있다[52].

그동안 probiotics의 효능 및 기전의 연구는 위장관계 질환에 중점적으로 연구 되어 왔다. 많은 연구에서 급성 설사나 crohn disease와 같은 전염성, 전신성 질병에 probiotics가 효과가 있다는 것을 증명해왔다 [53]. 또 다른 연구들에서는 심혈관계 질환[54]이나, 비노생식계 질환,[55] 종양[56] 등에도 probiotics를 적용 가능할 수 있을 것이라 제안하였다.

그동안 구강질병은 probiotics가 적절히 적용될 수 있는 대상으로 제안 되어 왔다. 특히 치태세균과 관련된 치아우식증이나 치주질병에서 probiotics가 효과적인 치료방법으로 잠재력을 가지고 있다고 평가된다. 치아우식증에 있어서 현재까지 널리 사용되는 전통적인 치료 방법은 치아우식증에 이환된 치아구조를 제거하고 인공물질로 채워놓는데 이러한 방법은 치아우식증의 원인세균에 대한 치료가 아니다. Probiotics를 이용하면 현재 널리 이용되는 치료방법의 단점을 극복하고, 치아우식증 원인 세균에 대한 치료가 가능하다. 최근 들어 치아우식증에 대하여

probiotics를 이용한 치료방법에 대한 연구가 많이 행해지고 있고, 많은 연구에서 probiotics가 치아우식증에 효과적이라는 결과를 보여주고 있다.

## 1. Probiotics의 정의

Probiotics란 용어는 그리스 언어에서 유래된 것으로 “for life“란 의미를 가진다. Probiotics는 1965년에 Lilly와 Still Well에 의해 처음으로 특정 미생물에서 생산된 다른 미생물의 성장을 억제하는 물질을 뜻하는 antibiotic에 반대되는 의미를 가진 용어로 사용되었다[57].

2002년 WHO (World health Organization)에서는 probiotics를 “적절한 양을 투여해 숙주의 건강에 이로운 주는 살아있는 미생물“로 정의하였다. International Life Science Institute(ILSI) Europe에서는 “충분한 양이 섭취되었을 때 구매자의 건강에 이로운 주는 살아있는 미생물 식품“으로 probiotics를 정의하였다. 최근에는 보통 이 두 가지 정의가 사용된다. 앞에서 살펴본 두 가지 정의를 살펴보면 공통적으로 살아있는 미생물, 건강증진이라는 개념이 제시된다는 것을 알 수 있다. 따라서 이러한 두 가지 개념이 probiotics에 있어서 중요한 점이라는 것을 알 수 있다[51].

## 2. Probiotics의 기전

Probiotics가 위장관내에서 숙주의 건강에 이로움을 주는 기전은 많이 연구되어 왔다. 지금까지 다수의 기전들이 제시되었지만 아직 완전히 밝혀지진 않았다. Probiotics가 구강에서 작용하는 기전도 연구가 부족해 완전히 밝혀지지 않았다. 하지만 구강 내에서도 probiotics가 위장관내에서 작용하는 기전과 같은 방법으로 작용하여 유익한 효과를 발생시킬 것으로 보인다[58]. 따라서 그동안 많이 연구되었던 위장관에서의 기전을 통해 Probiotics가 구강 내에서 작용하는 방법을 예측해 볼 수 있다.

지금까지 밝혀진 probiotics의 작용 기전을 살펴보면 probiotics는 점막의 방어벽(barrier) 기능을 강화시키고 정상 미세환경을 회복함으로써 병원성 미생물의 집락화에 대한 저항성을 증진시킨다. 그리고 점막의 투과성을 감소시켜 여러 가지 물질의 체내 침투를 막는다[59].

병원성 세균은 숙주 조직에 부착한 후 집락을 형성해 병원성을 발휘하기 때문에 숙주 조직에 부착하는 것이 병이 발생하는데 있어서 첫 번째 단계라 할 수 있다. Probiotics는 병원성 세균이 숙주조직에 정착하는 과정을 억제하여 병원성이 발휘되는 것을 막는다. 그리고 probiotics는 acid, peroxide, bacteriocins와 같은 항미생물성 물질을 생산해 병원성 세균을 억제할 수 있다[60, 61]. 또한 probiotics는 숙주의 면역계를 자극하거나 조절함으로써 병원성 세균에 의해 질병이 발생하는 것을 막는다. 예를 들어 Probiotics는 NF $\kappa$ B 기전에 작용하여 pro-inflammatory cytokines의 생산을 감소시키고, IL-10와 같은 anti-inflammatory

cytokines의 생산을 증가시킨다. 그리고 probiotics는 점막 면역에 중요한 dendritic cell의 성숙에 영향을 주고 IgA 분비를 증가함으로써 숙주의 건강에 도움을 준다[62].

앞에서 구강 내에서 적용될 수 있는 probiotics의 기전들에 대해서 살펴 보았다. 하지만 probiotics 효과가 나타나는 기전은 사용된 세균의 종류 및 조합, prebiotics의 존재 여부, 숙주가 지닌 질병 상태 등에 따라서 조금씩 차이가 있을 수 있다. 따라서 앞으로 probiotics를 위험 없이 구강에 적용하기 위해서는 더 많은 연구가 필요하다.

### 3. Probiotics의 임상적 및 실험적 연구

현재까지 probiotics가 구강건강에 가져오는 이점에 대해서 많은 연구들이 진행되었다. Probiotics가 치주질환이나 구취 등 다양한 구강질환에 효과가 있다는 연구도 진행되었지만 대부분의 실험적 연구와 임상연구는 치아우식증에 집중되어 있다. 대부분의 연구에서 probiotics가 치아우식증을 유발하는 주요 세균인 *S. mutans*를 억제하는 긍정적인 결과를 보여주었다.

다른 미생물보다 Lactobacilli세균의 probiotics특성에 대해 많이 연구가 진행되었다. 특히 *L. rhamnosus* GG가 많이 연구되었는데 *L. rhamnosus* GG는 다른 Lactobacilli와 달리 설탕을 쉽게 발효시키지 못하기 때문에 치아에 안전한 세균으로 인식되었다. 대조군 연구에서 *L. rhamnosus* GG가 *S. mutans*를 억제하고 치아우식증 감소에 효과적이라

는 결과가 제시되었다[63]. 그러나 *L. rhamnosus* GG가 구강 내에서 집락을 이루게 만드는 것이 어렵다는 한계점이 있다고 연구에서 밝히고 있다[64].

2001년 Nase의 연구에서는 594명의 1~6세 유치원생들에게 7개월간 우유를 통해서 *L. rhamnosus* GG를 적용시키는 실험을 하였다. 실험결과로 임상적 data와 타액 및 치태 내 *S. mutans* 레벨을 측정하는 microbiological data를 이용하여 치아우식증 위험도를 평가하였다. Probiotics 우유를 섭취한 그룹이 보통 우유를 섭취한 그룹보다 임상적으로 치아우식증이 감소하였고 타액 및 치태 내에서도 *S. mutans*가 더 적은 정도로 존재한다는 결과를 도출 할 수 있었다. 특히 3~4세 어린이에 있어서 *L. rhamnosus* GG의 치아우식증 감소효과가 더 큰 것으로 관찰되었다[65].

2002년 Ahola의 연구에서는 *L. rhamnosus* GG, ATCC 53103와 *L. rhamnosus* LC 705 두 가지 probiotics를 혼합하여 치아우식증에 어떠한 영향을 끼치는지 실험하였다. 이 실험에서는 치즈를 통하여 probiotics 세균을 실험 대상자에게 전달하였다. 18-35세의 성인 74명에게 3주동안 하루에 한번 probiotics 세균이 함유된 치즈를 제공하였다. 실험 도중에는 probiotics 치즈를 섭취한 그룹과 보통 치즈를 섭취한 그룹간에 *S. mutans*의 수가 별다른 차이가 없었다. 하지만 실험을 중단한 후에는 probiotics 치즈를 섭취한 그룹이 보통 치즈를 섭취한 그룹보다 *S. mutans*의 수가 많이 감소하였다[66].

Ahola는 실험결과에 대해 Nase(2001)의 실험결과와 비교하여 분석하

였다. Nase (2001)의 실험결과에 비해 Ahola의 연구에서 치아우식증에 대한 probiotics 효과가 늦은 시기에 나타났는데 그 원인으로 사용한 probiotics 세균 종류와 실험 대상자의 연령을 제시하고 있다. Nase (2001)의 연구에서는 3~4세 어린이를 대상으로 했지만 Ahola의 연구에서는 18~35세의 성인을 대상으로 하였다. 성인의 경우 어린이와 달리 구강미생물이 성숙해서 안정화된 상태이기 때문에 probiotics 효과가 늦은 시기에 나타났다고 설명하고 있다[66].

2007년 Calgar의 연구에서는 타액에 존재하는 mutans Streptococci, Lactobacilli에 대한 xylitol과 probiotic chewing gums의 효과에 대해서 연구하였다. 21~24세의 건강한 성인 80명을 대상으로 *L. reuteri*를 이용하여 probiotics의 치아우식증에 대한 효과에 대해 실험하였다. xylitol과 probiotic chewing gums은 각각 타액 속 mutans Streptococci의 농도를 감소시키는 결과를 보여주었다. 하지만 xylitol과 probiotic chewing gums를 같이 사용하였을 경우 mutans Streptococci의 농도를 낮추는 효과를 상승시키지는 못했다[67].

또한 치아우식증에 대하여 다른 Lactobacilli 균주를 이용한 연구도 진행되었다. 이러한 연구에서 *L. casei*와 *L. acidophilus*도 실험적 연구나 임상실험에서 치아우식증 유발 세균인 *S. mutans*를 억제하는 결과를 얻을 수 있었다[68, 69]. 다른 연구에서는 Lactobacillus 외에 다른 probiotics 세균도 치아우식증을 감소시킬 수 있는 가능성을 보여주었다. Yoghurt에 Bifidobacteria를 첨가해 사용했을 경우에도 타액 속 *S. mutans*가 감소하는 결과를 보여주었다. 이러한 특성은 치아우식증 예방



에 Bifidobacteria가 probiotics 세균으로 사용될 수 있는 가능성을 보여준다[70].

한 연구에서는 probiotics에 유전자 조작 기법을 적용하여 치아우식증에 미치는 영향을 연구하였다. 이 실험에서는 designer probiotics라고 불리는 건강에 유익한 특성을 증가시킨 genetically modified probiotics 세균을 개발하였다. 유전자 재조합을 통해서 *L. zeae*가 *S. mutans*의 주요한 adhesins(antigen I/II)를 타겟으로 하는 항체를 생산하도록 고안하였다. 이로 인해 rat model에서 *S. mutans*의 수와 caries score가 감소한 결과를 확인할 수 있었다[71].

국내에서는 2009년에 *S. mutans*와 *S. sobrinus*에 대한 probiotics의 생장억제 효과에 대해 연구하였다. 이 연구는 *L. acidophilus*, *L. casei*, *L. plantarum* 세 가지 표준 유산균주들과 시판중인 요구르트 제품에 이용하여 *S. mutans*, *S. sobrinus*에 대한 생장억제 효과를 실험하였다. 결과를 살펴보면 정도의 차이는 있지만 probiotics 세균은 치아우식증 유발 세균을 전반적으로 감소시켰다. 치아우식증 원인세균과 probiotics 세균을 함께 배양했을 경우 1시간 동안 배양 했을 때보다는 2시간 동안 배양했을 때, 치아우식증 원인세균이 더 많이 감소하였으며, 24시간 동안 배양했을 때에는 50% 이상의 큰 억제효과를 나타냈다. 즉 치아우식증을 유발하는 세균과 probiotics 세균을 함께 배양했을 경우 배양하는 시간이 길수록 효과가 큰 것으로 보아 치아우식증 원인세균에 대한 probiotics 세균의 노출 시간이 중요한 것을 알 수 있다. 그리고 실험결과를 보면 특히 *L. plantarum* 유산균이 비교적 뛰어난 억제효과를 나타

내고 있다[72]. 시판중인 요구르트 제품을 이용한 결과를 살펴보면 앞의 실험보다 치아우식증 원인세균에 대해 더 높은 생장억제효과가 관찰되었다. 시판중인 요구르트 제품의 효과가 더 큰 것은 *Lactobacilli* 유산균 이외에 또 다른 probiotics 세균인 *S. thermophilus* 등이 포함되어 있어 상승효과를 나타낸 것으로 분석하고 있다. 또한 probiotics 세균에 의해 생성되는 올리고당 같은 prebiotics 물질 등이 상승작용을 한 것으로 분석했다[72].

#### 4. Probiotics와 다른 구강질환

Probiotics는 치아우식증 뿐만 아니라 다른 구강질환에서도 효과적인 치료방법으로의 가능성을 지니고 있다. 특히 치주질환에 있어서 probiotics의 연구도 활발히 진행 되고 있다. 여러 연구에서 probiotic *Lactobacilli*가 치주질환 주요 유발세균인 *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *A. actinomycetemcomitans*의 성장을 억제할 가능성을 가진다는 것을 보여주었다. 최근 Ricca는 만성치주질환을 지닌 환자를 대상으로 probiotics로 *L. brevis* 세균을 사용하여 연구하였다. *L. brevis*는 항염증 작용을 통해 치주질환을 감소시켰는데, 주로 PGE2, MMP를 감소시켰다. 이 연구에서 Ricca는 *L. brevis*가 nitric oxide의 생산을 감소시켜 치주질환을 일으키는 PGE2, MMP의 감소를 가져왔다고 제시하고 있다 [73].

이 밖에도 probiotics가 구취 감소에 이용될 수 있다는 긍정적인 결과를 보여주는 연구도 존재한다. 건강한 어린아이 구강 내에서 분리되는

*W. cibaria* 세균이 구취를 감소시키는데 잠재력을 가진다는 연구가 보고되었다. In vitro 실험에서 *W. cibaria*에 의해 생산되는 peroxide가 *F. nucleatum*가 생산하는 구취 주요 유발인자인 volatile sulphur compound를 감소시키는 결과를 보여주었다. 그리고 *W. cibaria*를 포함한 부유액으로 구강 세척한 실험자들의 호기에서도 *W. cibaria*에 의해 생산되는 peroxide가 의해 volatile sulphur compound를 감소시키는 결과를 보여주었다[74].

그리고 이외에도 probiotics 연구를 통해 구강 내 yeast 감염을 감소시킬 수 있는 가능성을 보여준 연구들도 진행되었다. Elahi는 probiotics를 통해서 구강 내 *C. albicans*를 감소시킨 결과를 보여주었다[75]. 이처럼 probiotics는 치아우식증 뿐만 아니라 다양한 구강질병에 사용될 가능성을 가지고 있다. 이러한 구강질병에 대해 probiotics가 임상적으로 사용하기 위해서는 앞으로 더 많은 연구가 필요할 것이다.

## 5. Probiotics의 안전성

오랜시간 동안 probiotics는 큰 위험 없이 유제품의 형태로 안전하게 섭취되어 왔다. 하지만 더 많은 probiotics를 임상적으로 적용 시키기 위해서는 안전성에 대한 연구도 필요할 것이다.

대부분의 probiotics 세균이 큰 위험 없이 이용되어 probiotics의 섭취가 증가하여 구강 내 probiotics 세균의 농도가 높아지면 균혈증이 발생할 가능성이 높아진다. 특히 면역기능에 이상을 보이거나 심각한 질병

을 가진 환자들은 균혈증 발생 가능성이 더 높아진다. 실제로 면역기능에 장애를 가진 환자나, 만성 질병을 가진 환자들이 probiotics 사용으로 인해 균혈증이 발생한 사례들도 존재한다[76]. Probiotics로 *L. rhamnosus*를 섭취한 환자의 경우 치과 치료 중 *Lactobacillus endocarditis*가 발생한 경우도 있었다[77]. 따라서 구강질병에 probiotics를 사용하기 위해서는 적절한 세균을 선택하는 것뿐만 아니라 probiotics를 섭취하는 환자 상태도 고려하는 것이 중요하다. 또한 probiotics 세균에 의해 항생제 저항성 유전자가 구강 내 다른 세균으로 전달될 수 있는 가능성에 대해서도 충분히 연구되어야 한다.

앞에서 probiotics가 치아우식증 치료에서 효과적으로 사용될 수 있는 가능성을 제시한 연구들을 고찰해 보았지만 probiotics로 사용되는 몇몇 세균들은 탄수화물을 발효시켜 산성물질을 생성할 수 있는 능력을 가지고 있다. 이러한 세균들이 치아에 접촉을 하면 손상이 발생할 것이다.. 따라서 이러한 세균들은 칼슘과 인이 존재하는 유제품을 이용해 환자에게 전달하는 것이 치아에 더 안전할 것이다. Probiotics로 산 생성세균을 사용할 경우 우식을 유발시키지 않도록 주의가 필요하다[78].

앞으로 probiotics가 치아우식증을 비롯한 많은 구강질병에 효과적으로 사용되기 위해서는 기본적으로 oral microbial ecology에 대해서 정확히 이해하고 있어야 한다. 그리고 모든 probiotics 세균이 동등한 효과를 내는 것이 아니며, 세균들은 각각 다른 특성을 가지기 때문에 probiotics로 사용할 경우 적절한 세균을 선택해야 한다. 더불어 각각의 질병에서 가장 효과적인 probiotics 세균을 찾아내야 한다. 앞으로 적정

용량이 얼마인지, 어느 균주의 혼합제가 더 유용한지를 규명하고, 작용 기전에 대한 연구와 함께 치료나 예방 목적으로 사용하기 전에 더 많은 임상 연구가 수행되어야 할 것이다.

선택된 세균에 대해서 앞에서 알아본 안전성 측면도 검증이 되어야 할 것이다. 그리고 추가적으로 probiotics를 효과적으로 전달하는 방법에 대해서도 연구가 필요할 것이다. 지금까지 probiotics를 전달하는 수단으로써 우유, 치즈, yoghurt와 같은 유제품이 많이 사용되어 왔다. 치아 우식증 등 구강질환을 예방하기 위해서는 probiotics 세균이 치아 조직에 부착하고 biofilm에 접근할 수 있어야 한다. 따라서 구강 내 조직에 대한 probiotics의 노출시간과 유지력이 매우 중요하다. 구강 내에서 probiotics의 효과를 극대화 하기 위해서는 구강 내 오래 존재하고 천천히 방출하는 probiotics 제제가 필요할 것이다.

## 제 5 절 Replacement therapy와 치아우식증

Replacement therapy는 비교적 무해한 effector strain을 숙주의 정상 미생물총에 도입해 병원성 세균의 과성장과 집락화를 억제함으로써 감염성 질환을 예방하는 치료방법이다[4].

전세계적으로 항생제 오남용이 증가하며 발생한 세균의 항생제 저항성으로 인해 세균성 질환을 치료하기 위한 새로운 방법의 개발이 필요한 시점이다. 하지만 새로운 항미생물성 제제를 개발하기 위해서는 많은 시간과 노력이 필요하다. 그리고 새로운 항미생물성 제제가 개발이 된다고

하더라도 현재 문제가 되고 있는 내성문제에 대해서 모든 점을 해결할 수 있는 것은 아닐 것이다. 그리고 항미생물성 제제는 문제를 일으키는 병원성 세균뿐만 아니라 숙주 내에 존재하는 정상세균총에도 영향을 끼친다. 그래서 숙주에 무해한 세균을 이용하여 병원성 세균을 억제하는 replacement therapy가 현재 감염성 질병을 치료하는데 대안적인 방법으로 관심을 끌고 있다.

현재 몇몇의 질환에 있어서 replacement therapy를 이용한 치료방법이 연구 중이다. Roos의 연구에서는 recurrent otitis media를 앓고 있는 아이들에서 공생세균인  $\alpha$ -hemolytic Streptococci를 이용하여 normal nasopharyngeal flora를 대체하는 것을 보여주었다. Bacteriotherapy를 이용한 치료를 받은 실험군은 대조군에 비해 otitis media 재발율이 절반 정도로 감소하였다. 3개월간 nasal spray를 이용해 Streptococci를 투여 받은 실험군에서는 42%가 건강해졌고 대조군에서는 22%가 건강해졌다 [79]. 그리고 Roos의 다른 연구에서는  $\alpha$ -hemolytic Streptococci를 이용하여 recurrent streptococcal tonsillitis를 예방하였다[80].

이 밖에도 *S. salivarius*를 통해서 streptococcal pharyngitis를 예방하려는 replacement therapy가 연구 중이고, 병원성이 없는 *S. mutans*를 통해서 치아우식증을 예방하는 연구가 진행되고 있다[81].

## 1. Replacement therapy의 원리

건강한 사람들은 태어나자마자 피부, 구강, 상부호흡기, 위장관, 질 등

의 외부환경에 노출된 장기 표면에 고유 미생물들이 집락을 형성한다. 그 후 고유 미생물들은 시간이 지나며 변화를 거쳐 안정되고 균형 잡힌 climax communities를 형성하게 된다. 정상 미생물총 혹은 상재 미생물총이라 불리는 미생물들은 사람들의 건강에 있어서 병원성 미생물의 침입을 막는 일차적 방어작용을 한다[82].

Replacement therapy의 기반은 숙주에 존재하는 정상적인 미생물총에 비교적 무해한 effector strain을 주입해 유지시키는 것이다. Effector strain으로 자연적으로 존재하는 세균이나 유전적으로 조작된 세균을 이용한다. 이 effector strain은 병원성 세균이 정상적으로 집락화 할 수 있는 동일한 숙주의 취약한 조직에 강하게 집락화 할 수 있는 특성을 지녀야 한다. 이러한 무해한 effector strain은 현존하는 미생물 생태계의 균형을 무너뜨리지 않아야 하고, 잠재적으로 숙주에 해를 끼칠 수 있는 병원성 세균의 성장을 억제하고 경쟁적으로 배제할 수 있어야 한다[81].

Replacement therapy에서 effector strain이 병원성 세균을 억제하는 방법은 이용되는 세균에 따라 다르지만 보통 다음과 같은 기전으로 이루어진다. Effector strain은 병원성 세균의 생존을 위한 필수 영양소나, 숙주 내에서 집락을 형성하는 장소에 대한 경쟁을 통해 병원성 세균을 억제한다. 이외에도 effector strain이 bacteriocins, bacteriocin-like inhibitory substances (BLIS)와 같은 항미생물성 물질을 생산하여 특이적인 병원성 세균을 억제한다[83].

## 2. 치아우식증과 관련된 replacement therapy 연구

치아우식증에 대한 여러 이론들 중 acidogenic theory에 따르면 세균의 발효과정에 의해 생산된 산, 특히 젖산에 의해 우식이 발생한다. 세균들이 생성한 젖산에 의해 치아 주변의 국소적 pH가 감소해 critical threshold 아래로 감소하게 되면 법랑질과 상아질의 탈회 과정이 시작된다. 이러한 과정으로 약해진 치아표면이 점차적으로 와동으로 발전해 임상적으로 병소를 형성한다[84]. 따라서 치아우식증의 발생에서 mutans Streptococci에 의한 젖산 생성이 필수적이기 때문에 연구 초기에는 effector strain으로 산 생성능력이 낮은 세균들을 찾았다[85, 86]. In vitro나 rodent models을 이용한 연구에서 lactate dehydrogenase deficient 돌연변이가 발생한 *S. rattus* 경우에 치아우식증 발생능력이 낮은 것을 발견할 수 있었다. 하지만 이 세균은 사람의 구강 내에서 효과적으로 집락화 할 수 없었기 때문에 effector strain으로 사용하기에 어려움이 존재하였다[87]. 이후 mutacin 1140이라 불리는 lantibiotic을 생성하는 자연적인 세균인 *S. mutans* JH1000를 발견하였다. Mutacin 1140은 다른 mutans Streptococci와 그람 양성세균들의 성장을 억제하였다. Mutacin 1140은 다른 구강 세균들을 억제함으로써 *S. mutans* JH1000는 구강 내에서 더 많은 집락을 형성할 수 있었다. 그리고 *S. mutans* JH1000의 돌연변이로서 JH1005와 JH1140 균주가 발견되었다. 이 세균들도 mutacin 1140을 생산할 수 있는 능력을 가진다[88].

이러한 연구들을 바탕으로 lactate dehydrogenase 결핍과 mutacin



1140 production의 두 가지 특성이 치아우식증에 대해 replacement therapy를 적용하기 위해 effector strain이 갖추어야 할 요건으로 생각되었다.

유전 공학기술이 발달하게 되면서 *S. mutans*에서 인위적으로 lactate dehydrogenase를 제거하였다. Recombinant DNA 기술을 이용해 lactate dehydrogenase의 open reading frame (ORF)를 삭제해서 lactate dehydrogenase를 결핍한 세균을 만들었다[89, 90]. 하지만 *S. mutans*에 있어서 lactate dehydrogenase 결핍은 치사적인 결과를 가져왔다. Lactate dehydrogenase 없이는 *S. mutans*가 더 이상 생존할 수 없었다. Thermolabile lactate dehydrogenase를 발현하는 *ldh*의 대립 유전자를 이용하여 lactate dehydrogenase 결핍이 대부분의 *S. mutans*에 있어서 치사적인 것을 증명하는 연구도 존재한다. 이것은 lactate dehydrogenase의 상실로 인해 NAD-NADH의 불균형을 가져오고 독성 중간 대사물이 축적되어 발생한 결과라 분석되었다. 이와 같은 한계점을 극복하기 위해서 *Zymomonas mobilis*를 이용하여 *S. mutans*의 alcohol dehydrogenase 활성을 증가 시켰다. 이로 인해 lactate dehydrogenase 없이도 *S. mutans*가 생존할 수 있었다. 이런 방법으로 치아우식증에 대한 replacement therapy의 effector strain으로 BCS3-L1 균주가 만들어 졌다[91].

BCS3-L1 strain의 경우 lactate dehydrogenase가 상실되고, alcohol dehydrogenase 활성이 증가되었기 대사과정의 최종산물로서 젖산 대신 에탄올, acetoin과 같은 비산성물질을 생산한다. 따라서 산성물질에 의해

야기되는 치아우식증을 감소시킬 수 있었다[92]. Fermentation end-product analysis에서 BCS3-L1 strain이 생산하는 젖산은 검출할 수 없었다. 설탕, 과당, lactose, mannitol, sorbitol과 같은 다양한 sugar와 polyols를 함께 배양한 경우 BCS3-L1 strain은 JH1140 strain보다 0.4 에서 1.2 정도 더 높은 pH를 보였다. 산 생성 능력이 감소된 BCS3-L1 strain은 여러 동물모델을 이용한 실험에서 치아우식증의 발생을 감소시켰다[89]. 그리고 BCS3-L1 strain은 mutacin 1140을 분비해 다른 mutans Streptococci나 그람 양성 세균의 성장을 억제하는 특성도 지니고 있다.

치아우식증에 대한 replacement therapy로 *S. salivarius* strain TOVE-R을 effector strain으로 이용할 수 있는 가능성을 보여준 연구가 있다. *S. salivarius* strain TOVE-R는 구강 내에서 혀보다 치아표면에 집락을 형성을 하는 것을 더 선호한다[93]. 그리고 *S. salivarius* strain TOVE-R은 mutans Streptococci보다 더 빠르게 성장한다[83]. Rat 실험에서 *S. salivarius* strain TOVE-R은 치태에서 우세하게 집락 형성을 하였다. 이로 인해 rat에서 mutans Streptococci와 치아우식증의 발생을 감소시켰다[93].

그리고 Clancy의 연구에서는 유전자 재조합 기술을 이용해서 ureolytic *S. mutans*를 만들었다. 이 세균은 요소를 가수분해 시켜 ammonia를 생산한다. 따라서 주변환경의 pH를 상승시킨다. 즉 젖산으로 인한 pH 감소로 야기되는 치아우식증의 발생을 억제할 수 있다. Ureolytic *S. mutans*를 이용한 동물실험에서도 치아우식증의 감소된 결

과를 볼 수 있었다. 즉 ureolytic *S. mutans*도 effector strain으로서 이용할 수 있는 가능성이 존재한다[94]. BCS3-L1 strain을 effector strain으로 사용할 경우 mutans Streptococci만을 특이적으로 억제하기 때문에 산을 생성하는 non-mutans Streptococci 세균에는 별다른 효과가 없다는 문제점이 존재할 수 있다. 하지만 ureolytic *S. mutans*을 이용할 경우 이러한 문제점을 보완할 수 있을 것이다.

치아우식증에 대한 치료방법으로 replacement therapy를 사용하기 위해서는 effector strain을 개발하는 것뿐만 아니라, 환자의 구강 내에 도입하는 시기도 매우 중요하게 고려해봐야 할 점이다. 인류에 있어서 mutans Streptococci의 전파에 대해서도 많은 연구가 있었다. 대부분의 연구에서 치아가 맹출 하기 시작한 후 몇 년 안에 어머니로부터 아이로 mutans Streptococci가 전달된다고 밝혀냈다[95]. 실제로 치아 맹출 시기 후 mutans Streptococci를 받는 시기가 아니면 수평적으로 전달하는 경우는 거의 없다[96]. 여러 연구에서 실험실에서 배양한 mutans Streptococci를 이미 고유의 미생물군이 확립된 건강한 성인의 구강 내에서 유지시키는 것은 매우 어렵다는 것을 보여주었다[97]. 따라서 치아우식증을 예방하기 위해서 replacement therapy의 관점에서 보면 effector strains을 구강 내 정착시키기 위해서는 window of infectivity 기간을 이용하는 것이 제일 유리할 것이다[98].

이와 같이 치아우식증의 치료방법으로 replacement therapy가 많은 관심을 받고 있다. 하지만 임상적으로 이용되기 위해서는 추가적인 연구가 필요하다. 지금까지는 동물실험을 통해 연구 되었지만 임상적으로 사용

되기 위해서는 앞으로는 인체에 대한 연구도 활발히 진행되어야 할 것이다.

### 3. Replacement therapy의 장점과 안전성

현재 감염성질환을 치료할 때 주로 항생제가 많이 쓰이고 있다. 항생제로 치료하는 것은 병원성 세균뿐만 아니라 숙주에 정상적으로 존재하는 고유미생물에도 무차별적으로 영향을 준다. 이로 인해 숙주의 미생물총에 변화가 생겨 superinfection 혹은 세균의 항생제 내성과 같은 부작용이 발생 할 수 있다는 위험성이 있다[99]. 하지만 replacement therapy는 특정한 병원성 세균에 초점을 맞춘 치료방법이기 때문에 이러한 위험성이 적다.

현재의 치아우식증 치료는 치아우식증을 유발하는 병원성 세균에 대한 치료가 아니라 질환에 이환된 치아조직을 제거한 후 인공물질로 수복하는 방법이 주를 이루고 있다 하지만 이러한 방식의 치료는 엄밀히 말하면 진정한 의미의 치료(cure)를 의미한다고 보기 어렵다. 병원성 세균에 대한 근본적인 치료가 아니기 때문에 이차 치아우식증이 발생할 위험도 항상 존재하게 된다. 하지만 치아우식증 치료에 replacement therapy를 이용할 경우 병원성 세균에 대해 근본적인 치료를 할 수 있게 되므로 진정한 의미의 치료(cure)가 이루어질 수 있다 또한 기존치료와는 달리 치료 후에도 이차 치아우식증 발생이 감소한다는 장점을 갖는다.

Replacement therapy의 또 다른 장점으로서는 effector strain이 구강 내

에 계속 유지되고 있는 동안에는 지속해서 치아우식증에 대한 예방적 효과를 갖는다는 것이다. 이는 한번의 치료로도 가능할 수 있기 때문에 치아우식증 치료에 사용되는 비용도 절감될 뿐만 아니라, 환자 교육에 대한 부담도 적어질 것이다. 그리고 구강위생 등에 대한 환자의 협조도 비교적 필요성이 낮아질 것이다. 하지만 이러한 장점들을 얻기 위해서는 effector strain이 사람의 구강 내에서 평생 유지될 수 있도록 하는 방법에 대한 연구가 필요할 것이다.

Replacement therapy에서 대해 기대해볼 수 있는 효과로 replacement therapy가 사람들 사이에서 자연적으로 전파 될 수도 있다는 점이다. 사람은 태어난 후 보통 치아가 형성되는 시기에 맞춰 부모의 구강 내 세균을 접촉을 통하여 전달 받는다. 따라서 부모가 effector strain을 가지고 있을 경우 아이는 접촉을 통해서 자연스럽게 아이에게 effector strain을 전달받을 수 있다는 장점도 존재한다[81].

Replacement therapy에 사용되는 effector strain은 경우 건강한 사람에게는 해가 거의 없다. 그러나 숙주가 면역기능 이상, 면역 억제제 같은 약물복용, 과도한 스트레스 등 불리한 환경에 놓이게 되면 새로운 질병을 발생할 수 있다는 위험성이 존재한다. 한 연구에서는 *S. aureus*의 병원성 균주를 억제하기 위해 피부 세균총에 *Staphylococcus* spp. 502A의 경우 도입하였더니 몇몇의 사람에 있어서 작은 피부 질환이 발생하였다고 밝혔다[100].

그리고 현재 치아우식증에 대한 effector strain으로 주목 받고 있는 BCS3-L1 strain은 lactate dehydrogenase가 결핍되었고 mutacin 을 생

산하는 특성을 가진다. 이러한 특성은 변화된 대사물질 등을 생성하여 plaque ecology를 변화시킬 수 있으며, 새로운 병원성 세균이 나타날 수 있는 위험성이 존재한다.

그리고 BCS3-L1 strain이 생산하는 mutacin 1140에 대해서도 안전성 연구가 필요하다. Mutacin 1140과 같은 분류에 속하는 항생제인 nisin은 매우 낮은 독성을 가진다고 증명되어 수십년 동안 음식 보존제로서 사용되어 왔다[101, 102]. 이렇듯 nisin의 독성이 매우 낮다고 인정되어 왔지만 같은 분류라고 해서 mutacin 1140의 독성도 낮을 것이라고 보는 것은 위험할 수 있다. 따라서 앞으로 effector strain으로 BCS3-L1 strain을 이용하기 위해서는 mutacin 1140에 대한 안전성도 검증되어야 할 것이다.

Lactate dehydrogenase가 상실된 BCS3-L1 strain이 자연적인 transformation에 의해 다른 세균으로부터 lactate dehydrogenase 능력을 다시 획득할 수 있는 위험성이 존재한다. 따라서 BCS3-L1 strain이 effector strain로서 사용되기 위해서는 유전적으로 매우 안정해야 한다. 이를 위해 앞으로의 연구에서는 strain BSC3-L1 세균에서 transformation capability를 없애는 것도 고려해야 할 것이다[103].

## 제 3 장 결론

치아우식증은 구강에 존재하는 산생성세균(특히 *S. mutans*)들에 의해서 발생하는데 크게 3가지 과정을 통해서 일어난다. 첫번째 과정에서는 adhesin을 통해 병원성세균이 치아표면에 부착하고 두번째 과정을 통해 병원성 세균이 glucosyltransferases를 이용해 glucan을 형성하고 biofilm에 세균이 증가한다. 마지막으로 세균이 lactate dehydrogenase를 이용하여 젖산을 생산해 치아우식증을 발생시킨다.[4] 위의 세가지 과정 중 하나 이상의 과정을 억제하면 효과적으로 치아우식증을 치료할 수 있을 것이다. 하지만 현재의 치아우식증의 주된 치료 방법인 수복치료는 위의 과정을 억제하는 치료가 아니다. 이로 인해 수복치료 후에도 환자가 잘 관리 하지 못할 경우 이차 치아우식증이 발생할 수도 있는 위험성이 존재한다. 따라서 현재의 수복치료에서는 성공적인 결과를 얻기 위해서 구강위생 등에 관하여 환자를 교육하는 것이 중요하다. 그리고 또한 환자들의 협조도가 매우 중요하다. 하지만 치아우식증이 발생하는 위의 과정을 억제하는 probiotics, replacement therapy와 같은 oral microbiota modification therapy에서는 환자들의 협조도가 치료의 결과에 중요한 영향을 끼치지 않는다. 또한 치료를 위해 사용한 이로운 세균이 구강 내에 유지되는 한 지속적으로 치아우식증을 예방할 수 있다는 장점을 가지고 있다. 그렇지만 oral microbiota modification therapy가 구강 내 미생물 구성에 영향을 주는 치료방법이므로 biofilm 등 구강 내 microecology에 대한 완벽한 이해가 선행되어야 할 것이다.

Prebiotics의 경우 구강건강에 대한 연구는 거의 없는 실정이다. 하지만 prebiotic에 의해 구강 내 미생물의 조성을 변화시킴으로써 구강질병에 이용할 가능성이 있으므로, 앞으로 많은 부분 연구가 필요하다.

Probiotics의 경우 여러 구강질병에 대한 연구가 되었지만 그 중 치아우식증에 대한 연구가 많이 진행되었다. 주로 *L. rhamnosus* GG를 probiotics 세균으로 이용하여 연구가 진행되었다. 대부분의 실험에서 타액 속에 존재하는 *S. mutans*가 감소하였고, 치아우식증도 감소한 것을 알 수 있었다. 그리고 치아우식증 외에도 치주질환이나, 구취, 곰팡이 감염 질환에서도 probiotics가 치료방법으로 이용될 가능성을 보여주는 연구도 있었다.

Replacement therapy에서 현재 활발히 연구되고 있는 effector strain은 BCS3-L1 strain으로, 유전공학 기법을 이용해 세균에서 산을 생성하는 lactate dehydrogenase를 없애 우식 유발 가능성을 감소시켰다. In vitro 뿐만 아니라 동물실험에서도 치아우식증을 감소하는 결과를 보여주었다. 앞으로 실제 치료방법으로 이용되기 위해서는 향후 더 많은 effector strain을 개발하고, 안전성도 충분히 검증되어야 할 것이다. 이 밖에도 effector strain로 ureolytic *S. mutans*를 이용한 동물시험에서도 치아우식증이 감소한 결과를 보여주었다.

이처럼 oral microbiota modification therapy가 치아우식증의 치료방법으로 이용될 수 있는 가능성을 보여주는 연구는 많이 존재한다. 하지만 임상에서 실제적으로 적용되기 위해서는 많은 연구가 필요하다. 향후 더 많은 effector strain을 개발하고, 안전성도 충분히 검증해야 할 것이다.



구강 내에 효율적으로 세균을 도입하는 방법이나 시간, 세균을 장기간 동안 유지하는 방법 등에 대해서도 많은 연구가 필요하다. 그리고 지금까지는 치아우식증을 유발하는 주요 세균인 *S. mutans*에 대한 연구가 진행되었는데 더 나아가서는 구강 내 산을 생성하는 능력을 가진 다른 세균에 대해서도 충분한 연구가 이루어져야 할 것이다

## 참 고 문 헌

1. Ettinger, R.L., Epidemiology of dental caries. A broad review. Dent Clin North Am, 1999. 43(4): p. 679-94, vii.
2. Pitts, N.B., Are we ready to move from operative to non-operative/preventive treatment of dental caries in clinical practice? Caries Res, 2004. 38(3): p. 294-304.
3. Featherstone, J.D., The science and practice of caries prevention. J Am Dent Assoc, 2000. 131(7): p. 887-99.
4. Anusavice, K.J., Present and future approaches for the control of caries. J Dent Educ, 2005. 69(5): p. 538-54.
5. Hamada, S. and H.D. Slade, Biology, immunology, and cariogenicity of *Streptococcus mutans*. Microbiol Rev, 1980. 44(2): p. 331-84.
6. Loesche, W.J. and L.H. Straffon, Longitudinal investigation of the role of *Streptococcus mutans* in human fissure decay. Infect Immun, 1979. 26(2): p. 498-507.
7. Loesche, W.J., Role of *Streptococcus mutans* in human dental decay. Microbiol Rev, 1986. 50(4): p. 353-80.
8. van Houte, J., Role of micro-organisms in caries etiology. J Dent Res, 1994. 73(3): p. 672-81.
9. Coykendall, A.L., Classification and identification of the viridans streptococci. Clin Microbiol Rev, 1989. 2(3): p. 315-28.
10. Bowen, W.H. and H. Koo, Biology of *Streptococcus mutans*-derived glucosyltransferases: role in extracellular matrix formation of cariogenic biofilms. Caries Res, 2011. 45(1): p. 69-86.
11. Selwitz, R.H., A.I. Ismail, and N.B. Pitts, Dental caries. Lancet, 2007. 369(9555): p. 51-9.
12. Twetman, S., Are we ready for caries prevention through bacteriotherapy? Braz Oral Res, 2012. 26 Suppl 1: p. 64-70.
13. Fejerskov, O., Concepts of dental caries and their

- consequences for understanding the disease. *Community Dent Oral Epidemiol*, 1997. 25(1): p. 5-12.
14. Kidd, E.A. and O. Fejerskov, What constitutes dental caries? Histopathology of carious enamel and dentin related to the action of cariogenic biofilms. *J Dent Res*, 2004. 83 Spec No C: p. C35-8.
  15. Lingstrom, P., et al., Dietary factors in the prevention of dental caries: a systematic review. *Acta Odontol Scand*, 2003. 61(6): p. 331-40.
  16. Bader, J.D., D.A. Shugars, and A.J. Bonito, A systematic review of selected caries prevention and management methods. *Community Dent Oral Epidemiol*, 2001. 29(6): p. 399-411.
  17. Scheie, A.A. and F.C. Petersen, The Biofilm Concept: Consequences for Future Prophylaxis of Oral Diseases? *Crit Rev Oral Biol Med*, 2004. 15(1): p. 4-12.
  18. Caufield, P.W. and A.L. Griffen, Dental caries. An infectious and transmissible disease. *Pediatr Clin North Am*, 2000. 47(5): p. 1001-19, v.
  19. Featherstone, J.D., The continuum of dental caries-evidence for a dynamic disease process. *J Dent Res*, 2004. 83 Spec No C: p. C39-42.
  20. Seow, W.K., Biological mechanisms of early childhood caries. *Community Dent Oral Epidemiol*, 1998. 26(1 Suppl): p. 8-27.
  21. ten Cate, J.M., Review on fluoride, with special emphasis on calcium fluoride mechanisms in caries prevention. *Eur J Oral Sci*, 1997. 105(5 Pt 2): p. 461-5.
  22. Pizzo, G., et al., Community water fluoridation and caries prevention: a critical review. *Clin Oral Investig*, 2007. 11(3): p. 189-93.
  23. Gonzalez-Cabezas, C., The chemistry of caries: remineralization and demineralization events with direct clinical relevance. *Dent Clin North Am*, 2010. 54(3): p. 469-78.
  24. Banas, J.A., Virulence properties of *Streptococcus mutans*.

- Front Biosci, 2004. 9: p. 1267-77.
25. Perch, B., E. Kjemis, and T. Ravn, Biochemical and serological properties of *Streptococcus mutans* from various human and animal sources. Acta Pathol Microbiol Scand B Microbiol Immunol, 1974. 82(3): p. 357-70.
  26. Whiley RA, R.R., Hardie JM, Beighton D, *Streptococcus downei* sp. nov. for strains previously described as *Streptococcus mutans* serotype h. Int J Syst Bacteriol, 1988. 38(1): p. 25-29.
  27. Svensater, G., et al., The acid-tolerant microbiota associated with plaque from initial caries and healthy tooth surfaces. Caries Res, 2003. 37(6): p. 395-403.
  28. Alaluusua, S., et al., The demonstration by ribotyping of the stability of oral *Streptococcus mutans* infection over 5 to 7 years in children. Arch Oral Biol, 1994. 39(6): p. 467-71.
  29. Li, Y. and P.W. Caufield, The fidelity of initial acquisition of mutans streptococci by infants from their mothers. J Dent Res, 1995. 74(2): p. 681-5.
  30. Saarela, M., et al., Typing of mutans streptococci by arbitrarily primed polymerase chain reaction. Arch Oral Biol, 1996. 41(8-9): p. 821-6.
  31. Caufield, P.W., G.R. Cutter, and A.P. Dasanayake, Initial acquisition of mutans streptococci by infants: evidence for a discrete window of infectivity. J Dent Res, 1993. 72(1): p. 37-45.
  32. Wan, A.K., et al., A longitudinal study of *Streptococcus mutans* colonization in infants after tooth eruption. J Dent Res, 2003. 82(7): p. 504-8.
  33. Schilling, K.M. and W.H. Bowen, Glucans synthesized in situ in experimental salivary pellicle function as specific binding sites for *Streptococcus mutans*. Infect Immun, 1992. 60(1): p. 284-95.
  34. Monchois, V., R.M. Willemot, and P. Monsan, Glucansucrases: mechanism of action and structure-function relationships.

- FEMS Microbiol Rev, 1999. 23(2): p. 131-51.
35. Munro, C.L., S.M. Michalek, and F.L. Macrina, Sucrose-derived exopolymers have site-dependent roles in *Streptococcus mutans*-promoted dental decay. FEMS Microbiol Lett, 1995. 128(3): p. 327-32.
  36. Bernimoulin, J.P., Recent concepts in plaque formation. J Clin Periodontol, 2003. 30 Suppl 5: p. 7-9.
  37. Matsumura, M., et al., The role of glucan-binding proteins in the cariogenicity of *Streptococcus mutans*. Microbiol Immunol, 2003. 47(3): p. 213-5.
  38. Birkhed, D., K.G. Rosell, and K. Granath, Structure of extracellular water-soluble polysaccharides synthesized from sucrose by oral strains of *Streptococcus mutans*, *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus sanguis* and *Actinomyces viscosus*. Arch Oral Biol, 1979. 24(1): p. 53-61.
  39. Burne, R.A., et al., Cariogenicity of *Streptococcus mutans* strains with defects in fructan metabolism assessed in a program-fed specific-pathogen-free rat model. J Dent Res, 1996. 75(8): p. 1572-7.
  40. Rozen, R., et al., The role of fructans on dental biofilm formation by *Streptococcus sobrinus*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus gordonii* and *Actinomyces viscosus*. FEMS Microbiol Lett, 2001. 195(2): p. 205-10.
  41. Ajdic, D., et al., Genome sequence of *Streptococcus mutans* UA159, a cariogenic dental pathogen. Proc Natl Acad Sci U S A, 2002. 99(22): p. 14434-9.
  42. Drucker, D.B. and T.H. Melville, Fermentation end-products of cariogenic and non-cariogenic streptococci. Arch Oral Biol, 1968. 13(5): p. 565-70.
  43. Tanzer, J.M., M.I. Krichevsky, and P.H. Keyes, The metabolic fate of glucose catabolized by a washed stationary phase caries-conducive streptococcus. Caries Res, 1969. 3(2): p. 167-77.

44. Fitzgerald, R.J., et al., Cariogenicity of a lactate dehydrogenase-deficient mutant of *Streptococcus mutans* serotype c in gnotobiotic rats. *Infect Immun*, 1989. 57(3): p. 823-6.
45. Gibson, G.R. and M.B. Roberfroid, Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. *J Nutr*, 1995. 125(6): p. 1401-12.
46. Roberfroid, M.B., Introducing inulin-type fructans. *Br J Nutr*, 2005. 93 Suppl 1: p. S13-25.
47. Guarner, F., Studies with inulin-type fructans on intestinal infections, permeability, and inflammation. *J Nutr*, 2007. 137(11 Suppl): p. 2568S-2571S.
48. Fuller, R. and G.R. Gibson, Modification of the intestinal microflora using probiotics and prebiotics. *Scand J Gastroenterol Suppl*, 1997. 222: p. 28-31.
49. Borody, T.J., et al., Treatment of ulcerative colitis using fecal bacteriotherapy. *J Clin Gastroenterol*, 2003. 37(1): p. 42-7.
50. Ouwehand, A. C., et al., Probiotics: an overview of beneficial effects. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 2002. 82: p. 279-89
51. de Vrese, M. and J. Schrezenmeir, Probiotics, prebiotics, and synbiotics. *Adv Biochem Eng Biotechnol*, 2008. 111: p. 1-66.
52. Reid, G., et al., Potential uses of probiotics in clinical practice. *Clin Microbiol Rev*, 2003. 16(4): p. 658-72.
53. Prantera, C., et al., Ineffectiveness of probiotics in preventing recurrence after curative resection for Crohn's disease: a randomised controlled trial with *Lactobacillus GG*. *Gut*, 2002. 51(3): p. 405-9.
54. Saini, R., S. Saini, and S. Sharma, Potential of probiotics in controlling cardiovascular diseases. *J Cardiovasc Dis Res*, 2010. 1(4): p. 213-4.
55. Reid, G., Probiotic agents to protect the urogenital tract against infection. *Am J Clin Nutr*, 2001. 73(2 Suppl): p. 437S-443S.
56. Rafter, J., Probiotics and colon cancer. *Best Pract Res Clin*

- Gastroenterol, 2003. 17(5): p. 849-59.
57. McFarland, L.V., Beneficial microbes: health or hazard? Eur J Gastroenterol Hepatol, 2000. 12(10): p. 1069-71.
  58. Meurman, J.H., Probiotics: do they have a role in oral medicine and dentistry? Eur J Oral Sci, 2005. 113(3): p. 188-96.
  59. Gronlund, M.M., et al., Lactobacillus GG supplementation does not reduce faecal colonization of Klebsiella oxytoca in preterm infants. Acta Paediatr, 1997. 86(4): p. 440-1.
  60. Rojas, M. and P.L. Conway, Colonization by lactobacilli of piglet small intestinal mucus. J Appl Bacteriol, 1996. 81(5): p. 474-80.
  61. Ouwehand, A., E. Isolauri, and S. Salminen, The role of the intestinal microflora for the development of the immune system in early childhood. Eur J Nutr, 2002. 41 Suppl 1: p. I32-7.
  62. Geier, M.S., R.N. Butler, and G.S. Howarth, Inflammatory bowel disease: current insights into pathogenesis and new therapeutic options; probiotics, prebiotics and synbiotics. Int J Food Microbiol, 2007. 115(1): p. 1-11.
  63. J. H. Meurman, H.A., and S. Salminen, Recovery of Lactobacillus Strain GG (ATCC 53103) from Saliva of Healthy Volunteers after Consumption of Yoghurt Prepared with the Bacterium. Microb Ecol Health Dis, 1994. 7(6): p. 295-298.
  64. Yli-Knuuttila, H., et al., Colonization of *Lactobacillus rhamnosus* GG in the oral cavity. Oral Microbiol Immunol, 2006. 21(2): p. 129-31.
  65. Nase, L., et al., Effect of long-term consumption of a probiotic bacterium, *Lactobacillus rhamnosus* GG, in milk on dental caries and caries risk in children. Caries Res, 2001. 35(6): p. 412-20.
  66. Ahola, A.J., et al., Short-term consumption of probiotic-containing cheese and its effect on dental caries risk factors. Arch Oral Biol, 2002. 47(11): p. 799-804.
  67. Caglar, E., et al., Effect of chewing gums containing xylitol or probiotic bacteria on salivary mutans streptococci and lactobacilli. Clin Oral Investig, 2007. 11(4): p. 425-9.

68. Caglar, E., et al., Salivary mutans streptococci and lactobacilli levels after ingestion of the probiotic bacterium *Lactobacillus reuteri* ATCC 55730 by straws or tablets. *Acta Odontol Scand*, 2006. 64(5): p. 314-8.
69. Busscher, H.J., A.F. Mulder, and H.C. van der Mei, In vitro adhesion to enamel and in vivo colonization of tooth surfaces by Lactobacilli from a bio-yoghurt. *Caries Res*, 1999. 33(5): p. 403-4.
70. Caglar, E., et al., Effect of yogurt with Bifidobacterium DN-173 010 on salivary mutans streptococci and lactobacilli in young adults. *Acta Odontol Scand*, 2005. 63(6): p. 317-20.
71. Kruger, C., et al., In situ delivery of passive immunity by lactobacilli producing single-chain antibodies. *Nat Biotechnol*, 2002. 20(7): p. 702-6.
72. 김은기, 김연선, 권현진, 이영기, 치아우식 유발 *Streptococcus mutans*와 *Streptococcus sobrinus*에 대한 유산균의 생장억제 효과 및 요구르트의 Probiotics 효능. *Kor J Oral Maxillofac Pathol*, 2009. 33(3): p. 167-174.
73. Riccia, D.N., et al., Anti-inflammatory effects of *Lactobacillus brevis* (CD2) on periodontal disease. *Oral Dis*, 2007. 13(4): p. 376-85.
74. Kang, M.S., et al., Inhibitory effect of *Weissella cibaria* isolates on the production of volatile sulphur compounds. *J Clin Periodontol*, 2006. 33(3): p. 226-32.
75. Hatakka, K., et al., Probiotics reduce the prevalence of oral candida in the elderly--a randomized controlled trial. *J Dent Res*, 2007. 86(2): p. 125-30.
76. Husni, R.N., et al., Lactobacillus bacteremia and endocarditis: review of 45 cases. *Clin Infect Dis*, 1997. 25(5): p. 1048-55.
77. De Groote, M.A., et al., *Lactobacillus rhamnosus* GG bacteremia associated with probiotic use in a child with short gut syndrome. *Pediatr Infect Dis J*, 2005. 24(3): p. 278-80.
78. Hedberg, M., et al., Sugar fermentation in probiotic bacteria-an



- in vitro study. Oral Microbiol Immunol, 2008. 23(6): p. 482-5.
79. Roos, K., E.G. Hakansson, and S. Holm, Effect of recolonisation with "interfering" alpha streptococci on recurrences of acute and secretory otitis media in children: randomised placebo controlled trial. BMJ, 2001. 322(7280): p. 210-2.
  80. Roos, K., et al., Recolonization with selected alpha-streptococci for prophylaxis of recurrent streptococcal pharyngotonsillitis—a randomized placebo-controlled multicentre study. Scand J Infect Dis, 1996. 28(5): p. 459-62.
  81. Tagg, J.R. and K.P. Dierksen, Bacterial replacement therapy: adapting 'germ warfare' to infection prevention. Trends Biotechnol, 2003. 21(5): p. 217-23.
  82. Hooper, L.V., Bacterial contributions to mammalian gut development. Trends Microbiol, 2004. 12(3): p. 129-34.
  83. Kurasz, A.B., et al., In vitro studies of growth and competition between *S. salivarius* TOVE-R and mutans streptococci. J Dent Res, 1986. 65(9): p. 1149-53.
  84. Brex, M. and J. Vreven, [Acidogenic theory of dental caries]. Rev Belge Med Dent, 1977. 32(2): p. 139-50.
  85. Hillman, J.D., Lactate dehydrogenase mutants of *Streptococcus mutans*: isolation and preliminary characterization. Infect Immun, 1978. 21(1): p. 206-12.
  86. Abhyankar, S., H.J. Sandham, and K.H. Chan, Serotype c *Streptococcus mutans* mutable to lactate dehydrogenase deficiency. J Dent Res, 1985. 64(11): p. 1267-71.
  87. Johnson, C.P., S.M. Gross, and J.D. Hillman, Cariogenic potential in vitro in man and in vivo in the rat of lactate dehydrogenase mutants of *Streptococcus mutans*. Arch Oral Biol, 1980. 25(11-12): p. 707-13.
  88. Hillman, J.D., K.P. Johnson, and B.I. Yaphe, Isolation of a *Streptococcus mutans* strain producing a novel bacteriocin. Infect Immun, 1984. 44(1): p. 141-4.
  89. Hillman, J.D., et al., Construction and characterization of an

- effector strain of *Streptococcus mutans* for replacement therapy of dental caries. Infect Immun, 2000. 68(2): p. 543-9.
90. Chen, A., J.D. Hillman, and M. Duncan, L-(+)-lactate dehydrogenase deficiency is lethal in *Streptococcus mutans*. J Bacteriol, 1994. 176(5): p. 1542-5.
  91. Hillman, J.D., A. Chen, and J.L. Snoep, Genetic and physiological analysis of the lethal effect of L-(+)-lactate dehydrogenase deficiency in *Streptococcus mutans*: complementation by alcohol dehydrogenase from *Zymomonas mobilis*. Infect Immun, 1996. 64(10): p. 4319-23.
  92. Hillman, J.D., S.W. Andrews, and A.L. Dzuback, Acetoin production by wild-type strains and a lactate dehydrogenase-deficient mutant of *Streptococcus mutans*. Infect Immun, 1987. 55(6): p. 1399-402.
  93. Tanzer, J.M., A.B. Kurasz, and J. Clive, Competitive displacement of mutans streptococci and inhibition of tooth decay by *Streptococcus salivarius* TOVE-R. Infect Immun, 1985. 48(1): p. 44-50.
  94. Clancy, K.A., et al., Characterization of recombinant, ureolytic *Streptococcus mutans* demonstrates an inverse relationship between dental plaque ureolytic capacity and cariogenicity. Infect Immun, 2000. 68(5): p. 2621-9.
  95. Berkowitz, R.J. and P. Jones, Mouth-to-mouth transmission of the bacterium *Streptococcus mutans* between mother and child. Arch Oral Biol, 1985. 30(4): p. 377-9.
  96. Alaluusua, S., Transmission of mutans streptococci. Proc Finn Dent Soc, 1991. 87(4): p. 443-7.
  97. Svanberg, M. and B. Krasse, Oral implantation of saliva-treated *Streptococcus mutans* in man. Arch Oral Biol, 1981. 26(3): p. 197-201.
  98. Hillman, J.D. and S.S. Socransky, Replacement therapy of the prevention of dental disease. Adv Dent Res, 1987. 1(1): p. 119-25.

99. Cunha, B.A. and A.M. Ortega, Antibiotic failure. *Med Clin North Am*, 1995. 79(3): p. 663-72.
100. Huovinen, P., Bacteriotherapy: the time has come. *BMJ*, 2001. 323(7309): p. 353-4.
101. Rayman, M.K., B. Aris, and A. Hurst, Nisin: a possible alternative or adjunct to nitrite in the preservation of meats. *Appl Environ Microbiol*, 1981. 41(2): p. 375-80.
102. Hurst, A., Nisin: its preservative effect and function in the growth cycle of the producer organism. *Soc Appl Bacteriol Symp Ser*, 1978. 7: p. 297-314.
103. Hillman, J.D., Genetically modified *Streptococcus mutans* for the prevention of dental caries. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 2002. 82(1-4): p. 361-6.

## Abstract

# A Review of the Oral Microbiota Modification Therapy of Dental Caries

Min Kyu Kim

Department of Dentistry

School of Dentistry

Seoul National University

Dental caries is the most common chronic disease in the world. Dental caries is the major cause of pain and tooth loss in the oral cavity. The economic burden of the disease is very high. Already when caries occurs, typically restorative treatment is performed using artificial materials such as amalgam, resin and gold after removal of the caries lesion. Because the purpose of the treatment is not a removal of cariogenic pathogens, there is always a risk of secondary caries.

Therefore, the purpose of this study is to discuss the oral microbiota modification therapy that can be used as a treatment of dental caries in the future.

Prebiotics are defined as non-digestible food ingredients that beneficially affect the host. They do so, by stimulating the growth and/or the activity of one or more specific bacteria and thus improving the health of the host. These prebiotics are expected to be the sources for the treatment of dental caries. But until now, researches have been mainly focusing on gastrointestinal diseases and there is a paucity of study about dental caries. Therefore, much study is needed. By definition, probiotics are bacterial cultures or living microorganisms which, upon ingestion in certain numbers, exert health benefits. In study on dental caries, probiotics reduced the number of *S. mutans* and dental caries in the oral cavity. In addition to dental caries, several studies revealed that probiotics can be used to treat other oral diseases such as periodontal disease, halitosis and fungal infections. To be practically used, further studies on investigating the safety of probiotics and the effective method of introducing them into the oral cavity are inevitable. Replacement therapy is to use a non-pathogenic mutants strain of *S. mutans* created to suppress the pathogenic *S. mutans* that is the main causative bacteria of dental caries. BCS3 – L1 strain currently being actively studied was made in a way to eliminate the lactate dehydrogenase that produces acid using genetic engineering techniques. In vitro and animal study showed the result of

reduced dental caries using this strain. To use the replacement therapy in clinical settings, more effector strains are needed to be developed along with its safety. In summary, many studies show the effectiveness of oral microbiota modification therapy to treat dental caries. Yet, much more studies are needed to apply the therapy in clinical settings.

Key word : dental caries, mutans Streptococci, *Streptococcus mutans*, probiotics, replacement therapy, prebiotics

Student number : 2011-22418

