

투고일 : 2010. 6. 10

심사일 : 2010. 6. 15

게재확정일 : 2010. 6. 18

치아우식증 유발세균의 모자감염

경북대학교 치의학전문대학원 예방치과학교실¹, 대구보건대학 치위생과²
 송근배¹, 김지혜¹, 이영은²

ABSTRACT

Prevention of Mother-to-child Transmission of *Streptococcus mutans*

Department of Preventive Dentistry, School of Dentistry, Kyungpook National University¹
 Department of Dental Hygiene, Daegu Health College²
 Keun-Bae Song¹, Ji-Hye Kim¹, Young-Eun Lee²

Objective: Transmission of *S. mutans*, a major dental caries pathogen, occurs mainly during the first 2.5 years of age. Children appear to acquire *S. mutans* mostly from their mothers, but few studies have investigated preventive effect of xylitol to *S. mutans* transmission from mother to child. The aim of this study was to perform a follow-up evaluation the preventive effect of xylitol chewing gum of the *S. mutans* of children's oral cavities, which included the characteristics of vertical transmission from mother to child. **Methods:** The mothers voluntarily participating in a women's oral health prevention program were divided into two groups (a control and a xylitol group). The subjects were 20 mother-child pairs, who were monitored for 30 months. Xylitol chewing gum group had consumed 2 gum pellets, 3 times a day for 24 months, and then they were followed until 30 months. At baseline, 24 and 30 months whole stimulated saliva samples were collected from the mothers. Children were also recruited from 6 months to 30 months after birth and were collected their dental plaque samples. After isolation and identification, the analysis of the colony count, transmission electron microscopy and real-time RT-PCR were performed to analyze the characteristics of *S. mutans*. **Results:** The *S. mutans* counts decreased steadily in the xylitol group at 24 months, but increased at 30 months. The similar results were showed at their children. While the glucan synthesis was decreased at xylitol group both mother and child. The expression of *gtfB*, *gtfD* and *ftf* were significantly reduced in the xylitol group both mother and child ($p < 0.05$). **Conclusions:** These findings indicate that chewing xylitol gum over a long period may decrease the expression of the genes associated virulence and reduced the glucan synthesis of *S. mutans*, which can result the preventing the mother-to-child transmission of *S. mutans*.

Key words : Dental caries Mother-to-child, *Streptococcus mutans*, transmission

I. 서론

태어난 직후 신생아의 구강은 무균상태이다. 그러나 성장과 함께 주변 환경으로부터 감염이 일어나서 생후 19~31개월 사이 유치 맹출이 대부분 완료되는 시기에 어머니가 이유식 등을 맛보거나, 아이에게 먹일 음식물 등을 입으로 잘라주는 행위 등으로 인해 어머니로부터 자녀에게로 치아우식증의 주요 원인균인 *Streptococcus mutans* (*S. mutans*)가 전이되어 영구적인 집락을 형성하게 된다¹⁻⁶. 이처럼 어머니의 구강 내 *S. mutans*가 자녀로 전이되는 일련의 과정을 모자감염이라 한다. Caufield 등⁷은 *S. mutans*가 구강 내에서 많이 발견되는 시기인 생후 19~31개월을 감염창 (window of infectivity)이라고 명명하면서 *S. mutans*의 집락 개시기를 제1유구치의 맹출 시기와 연관하여 설명하였다. 최근에는 Tanner 등⁸이 유아의 혀가 박테리아의 생태학적 영역이 될 수 있음을 밝히면서 치아 맹출 전 박테리아 획득 가능성에 대해 보고하는 등 치아 맹출 전 유아의 구강 안에서도 집락 형성이 가능하다는 주장들도 있다.

Kulkarni 등⁹은 유아 및 어머니로부터 추출된 *S. mutans* 균주에서 유사한 bacitracin profile 및 염색체 DNA 패턴을 가진다는 결과를 통하여 어머니로부터 자녀에게로 *S. mutans*의 전이를 증명한 바 있으며, Lapirattanakul 등¹⁰은 20명의 모자를 대상으로 한 연구에서 새로운 genotyping 방법인 Multilocus sequence Typing (MLST)을 이용하여 자녀의 70%가 어머니로부터 전이된 *S. mutans*를 가지고 있음을 확인한 바 있다. 따라서 타액 내에 *S. mutans*가 많은 어머니의 아이는 적은 어머니의 아이들과 비교하였을 때, 보다 더 많은 수의 *S. mutans*를 더 이른 시기에 획득하게 된다고 보고되고 있다. Berkowitz 등¹¹은 어머니의 타액 1ml 당 *S. mutans*가 10^5 CFU 이상이면 유아의 *S. mutans* 감염 빈도가 58%이며, 10^3 CFU 이하면 6%라고 보고하여 어머니의 타액 내 *S. mutans* 수준이 자녀의 *S. mutans*

감염에 중요한 역할을 한다고 주장하였으며, Kishi 등¹²도 real time PCR 분석을 통해 어머니의 타액 내 *S. mutans*와 *S. sobrinus* 수가 높은 그룹의 자녀가 MS를 가지는 비율이 높고 우식경험유치 수도 높았다고 보고하였다.

이와 같이 어머니의 치아우식증 유발세균의 보유 정도는 자녀의 구강 건강에 상당한 영향을 미치므로, 자녀의 치아우식증을 예방하기 위해서는 어머니의 구강 건강을 먼저 증진시키고 예방적 처치를 함으로써 자녀의 *S. mutans* 감염 정도를 줄이는 것이 필요하겠다. 이러한 일환으로 어머니로부터의 *S. mutans*의 조기 감염을 최소화시키기 위해 어머니를 대상으로 불소 및 클로로헥시딘의 사용, 자일리톨 껌의 저작 등의 방법이 권고되고 있으며, 그 중에서도 자일리톨 껌의 사용으로 인한 모자감염 차단에 대한 실증적 자료들이 최근 보고되고 있다¹³⁻¹⁵. Söderling 등¹³은 임신 기간 동안 타액 내 mutans streptococci 수가 많은 어머니들을 대상으로 출산 3개월 후부터 2년 동안 자일리톨 껌을 씹게 하였을 경우, 출산 후 6, 12, 18개월에 클로로헥시딘 또는 불소 바니쉬 처치를 받은 어머니의 아이들보다 적은 수의 mutans streptococci가 검출되었다고 하였다. 이처럼 어머니의 자일리톨 섭취는 2세 아이의 mutans streptococci 모자감염 가능성을 유의하게 감소시켰다. 또한 아이의 나이가 3~6세일 때도 여전히 자일리톨에 의한 mutans streptococci의 모자감염 감소 효과가 관찰된다고 보고하였다¹⁴. Isokangas 등¹⁵은 어머니가 자일리톨 껌을 씹었을 경우 아이가 2세일 때 클로로헥시딘 또는 불소 바니쉬 처치를 받은 어머니의 아이들보다 mutans streptococci 집락이 유의하게 감소하였고, 5세일 때 우식경험유치율 (dmf rate)이 70%까지 감소하였다고 보고하였다.

그러나 이러한 결과를 지지하는 국내의 연구는 아직까지 미비한 실정이고 특히 동양인의 어머니와 아이를 대상으로 자일리톨의 수직감염 차단효과를 확인한 연구는 별로 보고된 바가 없다. 또한 장기적인 자일리톨

섭취에 의한 *S. mutans*의 모자감염 차단효과에 있어서 전이 양상 및 독성인자를 분석한 연구는 거의 없다. 따라서 본 연구에서는 자일리톨을 이용한 치아우식증 유발세균의 모자감염 예방에 대한 효과를 분자생물학적 관점에서 살펴보고자 하였다.

II. 연구대상 및 방법

1. 연구대상

본 연구는 경북대학교 연구윤리심의위원회(Institutional review board; IRB)의 승인을 받은 후(승인번호: 의연74005-46), 모자감염 예방프로그램에 참여를 동의한 대상자를 연구대상자로 모집하였다. 또한 연구초기 구강검진 결과와 타액분비율을 비롯한 사회인구학적요인 및 구강보건관련행태의 차이가 없는 20명의 대상자들을 선별하였으며, 이를 각 10명씩 대조군과 자일리톨군으로 임의 할당하였다.

자일리톨군 대상자에게는 자일리톨 껌을 1일 3~6개씩 24개월간 복용하도록 하고, 정기적으로 대상자에게 전화하여 복용에 대한 순응도를 확인하였으며, 자일리톨 복용 시작 시점은 임부 어머니가 출산한 후 만 3개월이 지난 시점으로 정하였다. 한편, 자일리톨 껌을 씹지 않는 대조군 대상자들에게는 매일 성인 및 유아용 칫솔과 구강보건교육용 자료를 우송하였다. 이후 자녀가 태어난 경우, 생후 6개월, 12개월, 18개월, 24개월 및 자일리톨 껌 저작 종료 6개월 후 30개월에 어머니와 자녀의 구강건강상태를 측정하고 타액 및 구강 내 치면세균막을 채취하였다.

2. 연구방법

1) 타액, 치면세균막 채취 및 *S. mutans*의 분리 및 동정

연구대상자들로부터 5분 동안 paraffin wax를 씹

도록 하여 자극성 타액을 채취하였고, 각 대상자의 자녀로부터 치면세균막을 채취하였다. 각각의 타액 샘플과 치면세균막 샘플로부터 *S. mutans*를 선택적으로 배양하기 위해 0.2 U/ml의 bacitracin과 15% sucrose를 포함하는 Mitis salivarius agars에 도달하여 수소 5%, 이산화탄소 10%, 질소 85%인 혐기성 배양 조건을 갖춘 항온기 37°C에서 48시간 동안 배양하였으며, 전형적인 *S. mutans*와 mutans streptococci의 colony-forming units (CFU) 수를 측정하였다. 순수 집락을 얻은 후 이를 brain heart infusion (BHI)(Difco Laboratories, MI, USA) broth에 접종하여 37°C, 10% CO₂ 조건에서 배양하였다. 이후 TE buffer를 사용하여 DNA를 추출하고 GTFB primers를 사용한 PCR을 수행하여 *S. mutans*를 동정하였다.

2) *S. mutans*의 미세구조변화와 글루칸 합성 정도의 분석

배양한 *S. mutans*를 회수하여 통상적인 방법에 따라 전처리하고 포매하였다. 60°C에서 24시간동안 경화한 후, 70 nm 두께의 초박절편기를 사용하여 절편을 제작하고 200 mesh grid에 올려 acetate와 lead citrate로 이중염색 한 후 생물전용 투과전자현미경으로 관찰하였다.

3) 독력관련 관련 유전자 발현의 분석

배양된 *S. mutans*로부터 Tri-Reagent를 사용하여 RNA를 추출하였고 ImProm-II Reverse transcription system를 사용하여 cDNA를 합성하였다. mRNA의 증폭과 분석은 ABsolute QPCR SYBR Green Mixs 과 ABI-Prism 7000 Sequence Detection System을 사용하여 수행하였다. 실시간 PCR을 위해서 PCR product size가 200 bp 미만이 되도록 primer set을 제작하였다. DNA 증폭은 SYBR green 형광을 이용하여 측정하였으며, SYBR green의 측정값을 critical

threshold cycle (Ct)로 정하여 각각의 유전자들의 발현정도를 비교하였다.

Ⅲ. 연구결과

1. 연구대상 어머니와 자녀의 구강 내 세균 수의 변화

그림 1~3은 자일리톨 껌을 24개월간 사용한 이후와 사용 종료 후 6개월이 경과한 시점인 30개월째 어머니와 자녀의 치아우식 유발세균의 집락수와 출현율의 변화를 나타낸 결과이다.

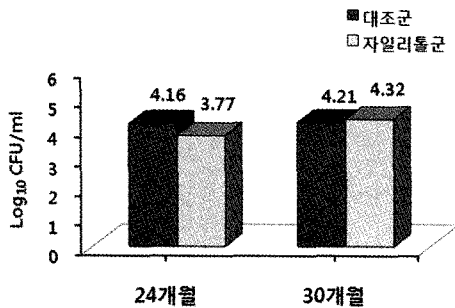


그림 1. 어머니의 타액 내 S. mutans 집락수 변화

연구대상 어머니의 집락수를 비교하였을 때, 24개월째는 자일리톨군 어머니의 집락수가 대조군과 비교하여 적었다. 그러나 30개월째 대조군에서는 24개월째와 비교하였을 때 큰 변화는 없었던 반면, 자일리톨군에서는 자일리톨 저작 종료 시점인 24개월에 비해 섭취 종료 6개월 후인 30개월에 오히려 집락수가 다소 증가하는 양상을 보였다. 연구대상 자녀의 경우도 마찬가지로 6개월 이후 모든 시점에 S. mutans 출현율이 대조군에 비해 자일리톨군에서 높았다. 반면, mutans streptococci 출현율은 모든 시기에 자일리톨군이 대조군에 비해 낮았다.

2. MSB 배지 상에서 배양된 S. mutans의 세포외부 다당류 합성 정도 변화

연구대상 어머니의 경우 30개월에 대조군의 세포외부 다당류 합성은 자일리톨 섭취 종료시점인 24개월과 별다른 차이를 보이지 않았다. 자일리톨군은 24개월에 대조군에 비해 세포외부 다당류 합성이 상당히 적었으며, 섭취 종료 6개월 이후인 30개월에도 24개월째 다당류 합성정도를 그대로 유지하였다. 또한 연구대상자의 자녀의 경우 대조군은 30개월의 점착성 물질이 24개월에 비해 증가한 반면, 자일리톨군은 다소 감소하는 경향을 보였으며, 24개월과 30개월 모두 자일리톨군

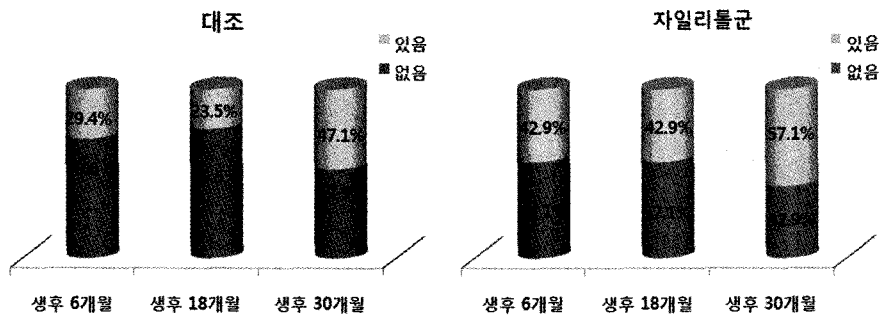


그림 2. 자녀의 치면세균막 내 S. mutans 출현율 변화

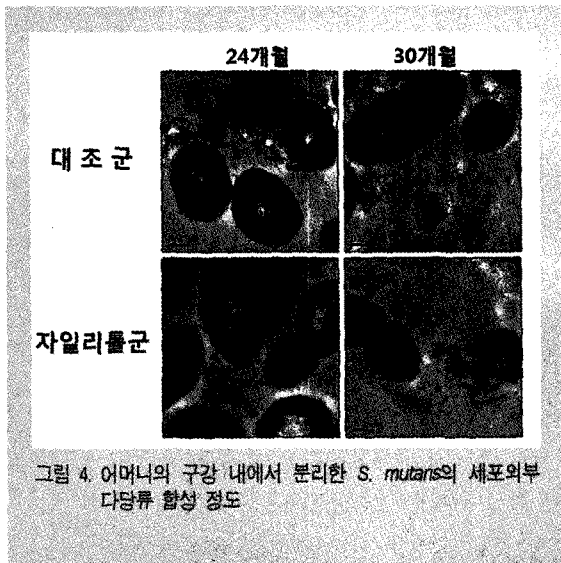
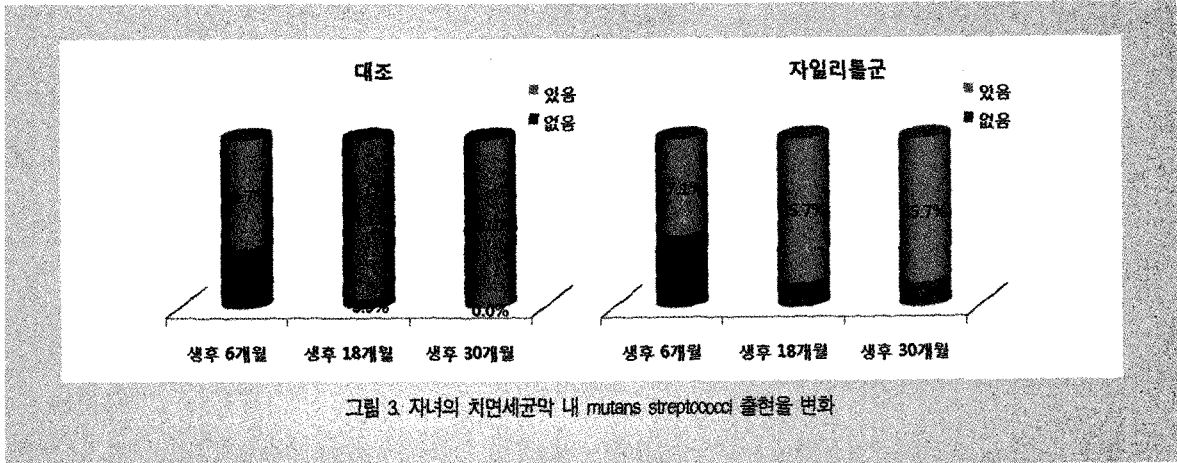


그림 4. 어머니의 구강 내에서 분리한 *S. mutans*의 세포외부 다당류 합성 정도

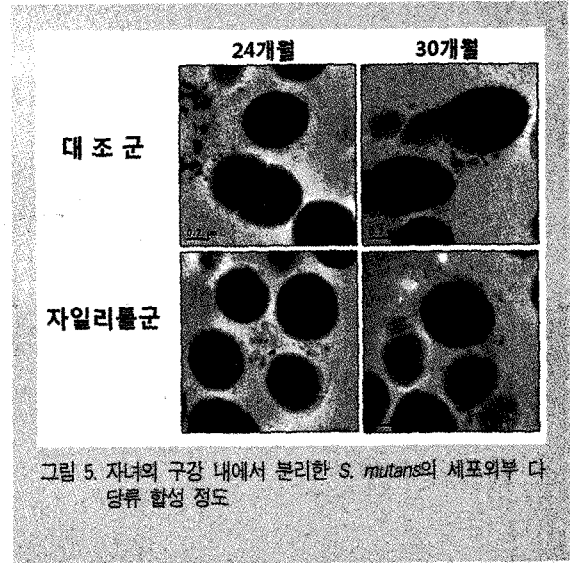


그림 5. 자녀의 구강 내에서 분리한 *S. mutans*의 세포외부 다당류 합성 정도

이 대조군에 비해 점착성 물질이 상당히 적은 것을 확인할 수 있었다(그림 4~5).

며, 특히 30개월에 연구대상 자녀의 유전자 발현이 뚜렷이 낮았다(그림 6~7).

3. 연구대상 어머니와 자녀로부터 분리한 *S. mutans*의 유전자 발현 변화

연구대상 어머니와 자녀 모두 24개월에 비해 30개월에 글루칸 합성에 관여하는 유전자 *gtfB*와 *gtfD*, 프릭탄 합성에 관여하는 *ftf*의 발현이 상당히 감소하였다. 또한 24개월과 30개월 모두 대조군에 비해 자일리톨군의 *gtfB*, *gtfD*, *ftf* 유전자 발현이 현저히 낮았

IV. 결론

어머니의 장기적인 자일리톨 섭취는 세포외부 다당류 합성, 글루칸과 프릭탄과 같은 다당류를 합성하는 유전자 *gtfB*, *gtfD*, *ftf* 발현 등의 독력을 뚜렷이 감소시키며, 자녀의 *S. mutans* 독력 또한 효과적으로 감소시켰다. 자일리톨 섭취 종료 6개월 이후 30개월에

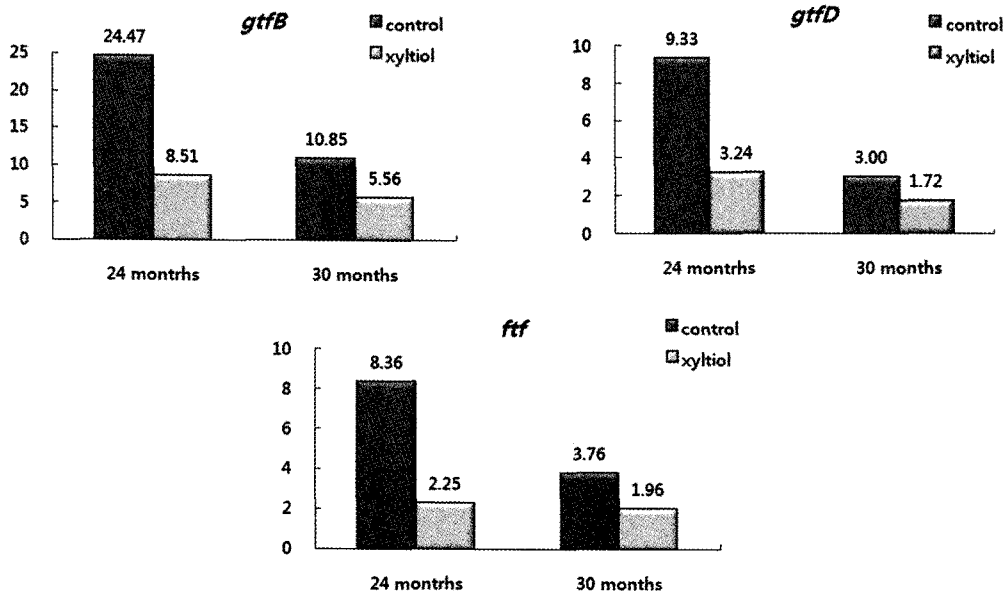


그림 6. 어머니에서 분리한 *S. mutans*의 독력관련 유전자 발현 변화

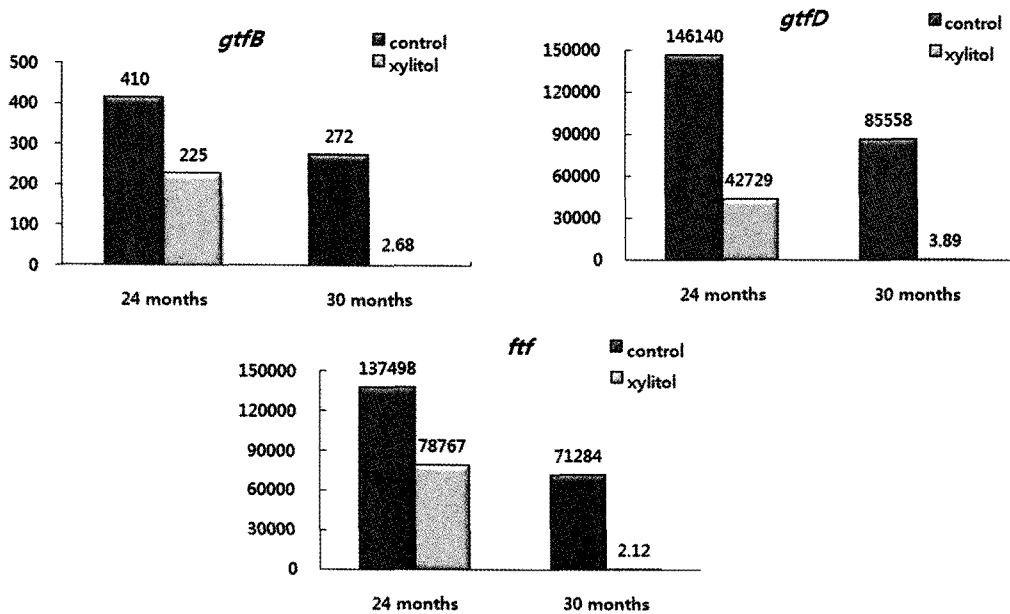


그림 7. 자녀에서 분리한 *S. mutans*의 독력관련 유전자 발현 변화

어머니에서 자일리톨 내성균주의 형성으로 *S. mutans*의 집락 수가 다소 증가한 것으로 사료되며, 자녀에게도 이러한 영향이 미쳐 *S. mutans*의 출현율은 대조군에 비해 높은 경향을 보였다. 그럼에도 불구하고 독립관련 유전자 발현을 비교하였을 때, *S.*

*mutans*의 독립은 어머니와 자녀 모두 대조군에 비해 자일리톨군에서 현저히 낮았다. 따라서 어머니의 장기적인 자일리톨 섭취는 모자감염을 예방할 수 있는 효과적인 방법으로 사료되었다.

참 고 문 헌

1. 안진공, 정진, 정태성 등. 18개월 유아의 *S. mutans*와 *Lactobacillus* 감염수준과 우식위험요인의 상관성에 관한 연구. 대한소아치과학회지 2006;33(3):388-399.
2. 장연수, 신승철, 이혜진 등. 수유형태와 어머니의 우식 정도가 유아의 우식발생에 미치는 영향에 관한 조사연구. 대한구강보건학회지 2006;30(1):67-74.
3. 류경, 정성화, 김지영 등. 어머니의 구강보건 행동과 지식이 자녀의 우식실태에 미치는 영향. 대한구강보건학회지 2004;28(1):105-114.
4. Klein MI, Flório FM, Pereira AC, et al. Longitudinal study of transmission, diversity, and stability of *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sobrinus* genotypes in Brazilian nursery children. J Clin Microbiol 2004;42(10):4620-4626.
5. Tedjosongko U, Kozai K. Initial acquisition and transmission of mutans streptococci in children at day nursery. ASDC J Dent Child 2002;69(3):284-288.
6. Mattos-Graner RO, Li Y, Cauffield PW, et al. Genotypic diversity of mutans streptococci in Brazilian diversity of suggests horizontal transmission. J Clin Microbiol 2001;39(6):2313-2316.
7. Cauffield PW, Cutter GR, Dasanayake AP. Initial acquisition of mutans streptococci by infants: evidence for a discrete window of infectivity. J Dent Res 1993;72(1):37-45.
8. Tanner AC, Milgrom PM, Kent R Jr, et al. The microbiota of young children from tooth and tongue samples. J Dent Res 2002;81(1):53-57.
9. Kulkarni GV, Chan KH, Sandham HJ. An investigation into the use of restriction endonuclease analysis for the study of transmission of mutans streptococci. J Dent Res 1989;68(7):1155-1161.
10. Lapidattanakul J, Nakano K, Nomura R, et al. Demonstration of Mother-to-child transmission of *Streptococcus mutans* using multilocus sequence typing. Caries Res 2008;42(6):466-474.
11. Berkowitz RJ, Turner J, Green P. Maternal salivary levels of *Streptococcus mutans*: The primary oral infection in infants. Arch Oral Biol 1981;26(2):147-149.
12. Kishi M, Abe A, Kishi K, et al. Relationship of quantitative salivary levels of *Streptococcus mutans* and *S. sobrinus* in mothers to caries status and colonization of mutans streptococci in plaque in their 2.5-year-old children. Community Dent Oral Epidemiol 2009;37(3):241-249.
13. Söderling E, Isokangas P, Pienihäkkinen K, et al. Influence of maternal xylitol consumption on acquisition of mutans streptococci by infants. J Dent Res 2000;79(3):882-887.
14. Söderling E, Isokangas P, Pienihäkkinen K, et al. Influence of maternal xylitol consumption on mother-child transmission of mutans streptococci: 6-year follow-up. Caries Res 2001;35(3):173-177.
15. Isokangas P, Söderling E, Pienihäkkinen K, et al. Occurrence of dental decay in children after maternal consumption of xylitol chewing gum, a follow-up from 0 to 5 years of age. J Dent Res 2000;79(11):1885-1889.