

다발성 치아우식증 소아에서 타액 단백질의 특성

연세대학교 치과대학 소아치과학교실*

연세대학교 치과대학 구강생물학교실**

양호정* · 장희순** · 이승일** · 최병재*

Abstract

CHARACTERISTICS OF THE SALIVARY PROTEINS IN THE CHILDREN WITH RAMPANT DENTAL CARIES

Ho-Jeong Yang*, D.D.S, Hee-Soon Chang**, B.S,
Sung-Il Lee**, D.D.S., Ph.D, Byung-Jai Choi*, D.D.S., M.S.D., Ph.D

* *Department of Pediatric Dentistry, College of Dentistry, Yonsei University*

** *Department of Oral Biology, College of Dentistry, Yonsei University*

As a part of host factors of dental caries, saliva has been well known for its important role in relation to dental caries. The studies on its physical and chemical characteristics on development and progress of dental caries has been conducted. Recently, various comparisons between saliva of caries-susceptible individuals and caries-free individuals has been done and the efforts to understand the mechanisms of salivary intervention of development and progress of dental caries is actively in progress. In this study, 15 children with rampant dental caries and 15 caries free children without any systemic diseases from the ages of 2 to 5 were chosen for the experiment and the whole saliva and parotid saliva from each individuals were collected and protein compositions were compared using polyacrylamide gel electrophoresis (PAGE).

As results of this study, in parotid saliva, there was no difference in protein compositions between the rampant dental caries and the caries free children. While electrophoresis was done with the whole saliva, protein with 120 KDa was found in children with rampant dental caries. However, this protein was not found or unclear, if any for the caries free group. (Exceptionally, clear protein band was present for one person.) Protein compositions of whole saliva of rampant dental caries group was compared before and after the caries control and thick and clear protein bands of about 120 KDa were found in both cases. Protein compositions of caries free children and adults were identical. Quantitative analysis of protein was done for the rampant dental caries group and the control group and no

significant difference was found.

Taken all together, protein with molecular weight of 120 KDa, found in rampant dental caries group, was still present when the treatment for the dental caries was done so it can be assumed that this protein has no interrelation with the presence of active carious lesions during saliva collecting. It can also be presumed that this specific salivary protein with the molecular weight of 120 KDa found in rampant dental caries group has effect on development and progress of dental caries. Identification on this protein with the molecular-weight of 120 KDa and the role of this protein against dental caries remain to be solved.

I. 서 론

최근 북미와 일부 서유럽 국가들의 치아 우식 발생률이 급격히 감소하고 있으나 그 이외의 지역에서의 치아 우식증의 발생률은 거의 변화가 없거나 증가하고 있는 추세이다 (Glass, 1982).^{16, 19)} 이렇게 계속되는 질환의 발현과 그 광범위한 분포에도 불구하고 치아 우식증은 다인자성 발생양상으로 인하여 지난 수십여년간 역학적, 병리학적, 면역학적, 생물학적, 물리화학적 및 생체물리화적으로 많은 연구와 업적이 있었으나 아직도 이의 발생, 진행 및 예방에 관한 많은 것들에 대해 밝혀지지 않은 상태이다.^{8, 15, 17, 20, 21, 22, 41)}

치아 우식증은 세 가지 주요 인자들간의 상호작용으로 일어나는 다인자성 질환으로서, 그 원인 인자로는 숙주 (host ; 주로 타액, 치아), 미생물 (microflora) 그리고, 기질 (substrate) 또는 식이 (diet)가 그것이다. 여기에 덧붙여 네 번째 요소 즉, 시간이 우식의 요인으로서 고려되고 있다. 이들 인자들의 상호관계를 네 개의 겹쳐지는 원으로 표시할 수 있으며 (그림 1), 우식이 발생하려면 이 인자들 각각이 모두 만족되어야 한다. 다시 말하면, 우식에 민감한 숙주 (susceptible host), 우식유발성 세균 (cariogenic oral flora), 그리고, 적절한 기질이 충분한 시간 동안 작용해야만 치아 우식증이 발생한다는 것이다.^{4, 23, 37, 39)}

이 중 숙주요인에 해당하는 타액은 소화 및 미각 감지 기능 외에도 항우식 기능을 가지며, 이 네가지 요소가 모두 만족되어야 우식이 발

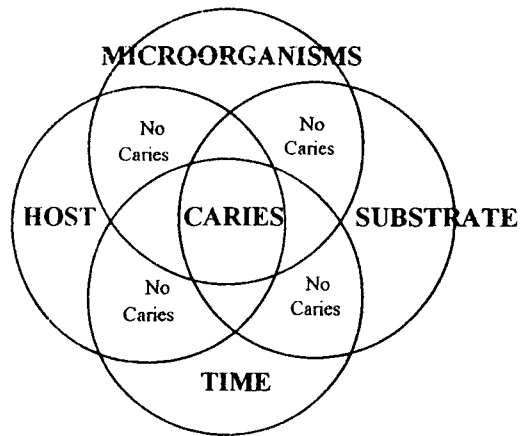


그림 1. 치아 우식증의 발생에 관여하는 인자들간의 관계를 나타내는 모식도.

생된다³⁷⁾. 분비량과 구성성분 및 물리·화학적 특성에 있어서 개인적인 차이가 있기 때문에, 개인간의 우식 감수성의 차이를 설명해 줄 수 있는 요인으로 주목되고 있다. 지금까지 알려진 바에 의하면, 타액은 다양한 방법을 통하여 우식에 저항하는 작용을 나타내는데, 즉 1) 세균 및 식피를 제거 (clearance)하고, 2) 세균에 대해 직접적인 정균 및 살균 작용을 하며, 3) 치태내의 pH를 조절하고, 4) 법랑질의 용해도를 조절하는 등의 기능을 통해서, 구강내 세균의 생태에 변화를 가져와 우식의 초기 발생과 진행에 영향을 주게된다.^{6, 29)} 이와같이 치아우식 과정은 다양한 요소와 체계들이 조화를 이루어 진행되기 때문에 이 중 한 가지 요소에

촉점을 맞추어 연구를 할 때, 그 외의 다른 많은 변수들이 적절히 조절되지 못한 경우가 많았다. 그럼에도 불구하고 타액내 우식에 대한 방어 요소와 치태성분 및 치면과의 상호작용 등에 대하여 활발한 연구가 진행되어 오고 있다.

현재까지 치아우식과 타액의 여러 요소간의 관계에 있어서 타액의 물리적, 화학적, 생물학적 특성이 모두 중요하게 생각되고 있으며^{5,9, 11, 36, 38, 43, 47, 57, 58}, 치아 우식증에 영향을 미치는 이들 요인 중 특히, salivary amylase, urea, ammonia, calcium, phosphate, pH 등이 치아우식과 연관되어 있는 것으로 생각된다.^{9, 11} 타액의 분비율 (flow rate)과 치아 우식과의 관계에 대한 연구를 토대로 타액 분비가 감소된 사람에게 있어서 우식병소가 급속히 파급되는 것으로 알려진 바 있다 (Miller, 1904).³⁶ 이외에도 연하반도, 잔류량 (residual volume; 연하한 후 구강내에 남아있는 타액량) 및 타액 유입량 (salivary influx)이 모두 세정 작용에 중요한 역할을 하는 것으로 믿고 있을 뿐 아니라 (Colin Dawes, 1983)¹¹, 타액의 분비량이 우식과 직접적인 관계가 있다고 보고된 바 있다.^{10, 33, 54} 그러나, 이들이 치아우식에 직접적으로 영향을 미치는지에 대해서는 의견이 일치되지 않고 있는 상태이다.^{5, 25, 38, 47, 58} 즉, 타액 분비율이 치아우식에 미치는 영향을 연구한 최근의 연구 결과 (Billings, 1993)^{2, 12}, 전타액의 분비율과 사람의 치아우식 경험도 사이에 뚜렷한 직접적인 상관성을 찾을 수 없었고, 오히려 전타액의 완충능 (buffer capacity)과 개인의 우식 경험도 사이에 역상관 관계가 있음을 제시하였다. 타액내의 주요 완충계로 bicarbonate-carbonic acid ($\text{HCO}_3^-/\text{H}_2\text{CO}_3$, $\text{pK}_1=6.1$)와 phosphate-phosphoric acid ($\text{HPO}_4^{2-}/\text{H}_2\text{PO}_4^-$, $\text{pK}_2=6.8$) 계를 들 수 있는데, 이 중 $\text{HCO}_3^-/\text{H}_2\text{CO}_3$ 완충계가 더 중요한 역할을 한다. 더우기, 우식 유발에 관한 종적인 연구 (longitudinal study)에서 완충능의 감소시, 9개월 만에 우식 증가율이 최고치를 보였다는 결과³⁴로 미루어, 이러한 타액의 완충능이 우식과 밀접한 관계를 가진다는데 일치된 의견을 보이고 있다.^{28, 31, 38} 따라서, 타액 분비율 자체는 타액내 $\text{Na}^+/\text{HCO}_3^-$

비율에 변화를 주는데, 즉 타액 분비율이 높은 경우에는 완충능이 증가되므로 결과적으로 우식을 감소시킨다는 것이다.^{13, 14, 38} 이는 타액 분비율 자체가 직접 우식에 영향을 준다고보다 타액이 완충능을 조절하므로써 간접적으로 치아우식증의 발생 및 진행을 조절함을 의미하는 것으로 여겨진다.

이러한 타액의 분비율이나 완충능 외에도, Donald Hay (1983)¹⁸가 이하선 및 악하선 타액내의 단백질과 우식과의 상관성에 대해 언급한 이후, 타액 단백질에 관한 많은 연구가 이루어져 왔는데, 이들 중 대부분은 최근에 와서야 그 특성이 밝혀졌다. 이러한 타액내의 거대 분자들 (macromolecules)은 세균이 치면에 부착하는 것을 방해하는 역할 및 연조직 보호기능을 갖는다고 하였고,²⁹ 이외에도 타액에는 치태내의 pH를 조절하는 단백질 분해산물들— 즉, 잘 알려진 bicarbonate buffer 외에도 urea, ammonia, arginine과 lysine을 포함하는 peptide 등이 포함되어 있다고 하였다. 따라서 타액 단백질에 대한 연구는 우식을 예방하는 차원에서 관심의 대상이 되고 있으며, 실지로 우식 활성이 높은 사람과 낮은 사람의 타액내 성분에 대한 비교연구를 바탕으로 보다 근본적으로 치아 우식증의 발생기전을 밝히려는 노력 또한 계속되고 있다. Cowman 등 (1979)⁶은 우식활성이 낮은 사람에 비해 우식 활성이 높은 사람의 전타액 혹은 이하선 타액에서 *S. mutans*가 더 많이 증식하였음을 관찰하고, 전기영동을 통한 연구결과 우식 활성이 높은 타액에 있는 밝혀지지 않은 몇 종류의 단백질은 미생물의 공격에 대해 감수성이 높았고, 이에 비해 우식 활성이 낮은 타액에서의 같은 단백질은 세균에 대해 저항성이 있었다고 보고하였다. 또한, Rosan (1982)은 우식 활성이 높은 사람과 낮은 사람에서 악하선 타액을 분석하여, 우식 활성이 낮은 사람에서 타액에 의한 세균 응집능 (saliva-mediated bacterial aggregation)이 높고, 세균의 치면 부착 (bacterial adhesion)이 낮았음을 보고한 바 있다. 그는 이 연구를 통하여 타액 매개의 세균 응집 반응과 세균의 치면 부착이 우식 저항에 중요한 요소

임을 지적하였다.⁴⁵⁾

Slomiany와 Mandel 등 (1989)은 우식 활성이 높은 사람과 낮은 사람의 구강상피로부터 mucus coat를 분리하여 두 집단 모두에서 단백질량은 유사하였으나, 우식활성이 낮은 집단에서 당단백질 함량은 높고, 지질과 공유 결합된 지방산의 함량은 더 낮았음을 관찰하고 이러한 당단백질은 세균 응집에 일차적 역할을 하는 low molecular-weight mucin (mucin-glycoprotein 2 ; MG2)일 것이라고 추론하였다.⁵²⁾ 이어서, Piotrowski 등 (1992)은 우식 활성이 높은 집단과 낮은 집단에서의 *S. mutans*와 *S. sanguis*에 대한 세균 응집능을 조사한 결과, 우식 감수성이 낮은 집단에서는 우식 감수성이 높은 집단에 비해서 MG2의 함량이 높았고, 반면 우식 감수성이 높은 집단의 타액에서는 high molecular-weight mucin (mucin-glycoprotein 1 ; MG1)의 함량이 높았음을 관찰하고, 타액내 MG2의 함량이 높을때 세균 제거능이 큰 것으로 추론하였다.⁴²⁾

그러나 이제까지의 연구는 영구치열을 가진 청소년이나 성인을 대상으로 연구된 결과로, 오히려 유치열기 소아에서 더 흔히 나타나는 다발성 치아 우식증의 양상을 설명해주기에는 부족한 점이 있으며, 우식 감수성이 높은(caries-susceptible 또는 caries-active) 집단과 우식 저항성이 높은(caries-resistant 또는 caries-inactive) 집단을 분류함에 있어서, 단 몇 개의 우식경험 치아(DMFT : Decay, Missing, Filling)를 기준으로 분류하여, 각 집단 간의 특성을 충분히 반영하지 못한 점 등이 문제점이라 할 수 있다. 그러므로, 본 연구에서는 만 2-5세 사이의 유치열을 가진 소아를 대상으로 하되, 다발성 치아우식증 소아 집단으로서 우식경험 치아가 17개 이상인 아동을, 우식활성이 낮은 집단으로서 우식 경험치아가 전혀 없는 아동을 선정하여 각 집단 간의 특성을 최대한 살리고자 하였다. 이러한 아동을 대상으로, 두 집단의 타액 성분을 비교 분석하여 이들간의 단백질 조성에 차이가 있는지를 밝히고, 그 차이를 통하여 아동에서의 우식 발생을 예견하고, 이를 미리 예방할 수 있는 방법을 모색하는데 도움이

되고자 하여 본 연구를 시도하였다.

II. 연구대상 및 방법

가. 연구 대상

연세대학교 소아치과에 내원한 만 2-5세의 전신질환이 없는 소아로서 우식이 없는 정상 소아 15명과 다발성 치아우식증이 있는 소아 15명을 대상으로 하였으며, 다발성 치아우식증 소아는 우식 경험치아수가 17개 이상인 경우로, 우식이 없는 정상소아는 우식경험 치아가 전혀 없는 소아로 선정하였다. 또한 소아와 성인간에 단백질 조성에 차이가 있는지를 알아보기 위하여, 우식 경험치아가 전혀 없는 건강한 20대 성인 10명도 실험대상에 포함하였으며, 타액 채취 당시 구강내에 우식 병소의 존재여부가 실험결과에 영향을 미칠 가능성을 배제하기 위하여, 다발성 치아우식증 소아 집단 중 3명에 대해서는 우식에 대한 치료를 완료한 후 다시 타액을 채집하여, 이를 치료 전의 타액 단백질과 비교하였다.

나. 연구 방법

1. 타액의 채집 및 처치

위의 기준에 해당하는 소아를 대상으로, 먼저 2% 구연산 용액으로 혀의 가장자리를 자극하여 각 개인당 약 1.5 ml의 전타액 1.5 ml를 microcentrifuge tube에 수집한 후, Curby (1957)⁷⁾가 고안해 낸 기구를 변형시킨 acrylic plastic capsule을 사용하여 이하선 타액을 채취하였는데, 타액 채집기구를 구강내 협점막 후방부에 위치한 Stensen's duct의 개구부가 중앙에 오도록 위치시킨 후, 주사기가 연결된 polyethylene관의 끝을 잡고 주사기의 plunger를 바깥쪽으로 끌어당겨, 협점막과 plastic capsule사이에 음압이 형성되게 하여, 이를 구강내에 고정시켰다. Capsule이 협점막에 부착되었는지를 확인하고, 2%의 citric acid로 혀의 가장자리를 자극하여 개인당 약 1.5 ml의 이하선 타액 1.5 ml를 microcentrifuge tube에 채취하였다. 시험관에 채취한 전타액과 이하선 타액을 원심분리기에서 14,000rpm으로 20분간 원심분리

하여 상층액을 얻는 과정을 3회 반복한 후, 최종 상층액만을 -70°C 에서 보관하였다.

2. 전기영동에 의한 타액내 단백질의 분리

전기영동은 양쪽 gel plate사이 가장자리에는 spacer를 위치시키고, 아랫쪽에는 여과지를 접어 끼워넣어 밀착시킨 후, 수직평판 PAGE를 하기 위한 기구 5(X-Cell II[®] Mini-Cell System)에 위치시켰다. 이 둘레를 15% separating gel을 만들기 위한 solution [acrylamide stock solution, 5 ml; separating gel buffer, 2.5 ml; 증류수, 2.5 ml; 10% Ammonium Persulfate (APS), $50\ \mu\text{l}$; N, N, N', N'-Tetramethylene-ethylene diamine (TEMED), $5\ \mu\text{l}$]으로 sealing 하고, 그 윗쪽 입구로 조심스럽게 기포가 생기지 않도록 Pasteur pipette을 이용하여, 상방 15 mm 정도만 남기고, separating gel solution (15%)으로 채웠다. 그리고, 곧바로, 약 2 mm 높이 정도로 증류수를 부어, separation gel 용액이 평평하게 되도록 도왔다. gel이 형성되면, 증류수를 버리고 stacking gel 용액 [증류수, 2.3 ml; acrylamide stock solution, 0.67 ml; stacking gel buffer, 1 ml; 10% APS, $30\ \mu\text{l}$; TEMED, $5\ \mu\text{l}$]을 glass chamber의 끝까지 부어 넣는다. gel이 형성되기 전 comb을 삽입하고, gel이 형성된 후 형성된 well의 가장자리가 찢기지 않도록 조심해서 comb을 빼낸다. gel을 electrode assembly에 연결시키고, 전기영동 tank안에 넣는다. Electrophoresis buffer 내부와 외부 reservoir에 첨가하였다. 이때 gel의 상, 하단이 완충액에 충분히 잠기는지 확인한 다음, 처리된 각 sample $15\ \mu\text{l}$ 씩과 상품화된 size marker인 Mark12[®]를 넣어 전원을 연결하고, 전기영동하는데, 이때 125 V의 전압하에서 염색된 indicator가 최하방으로부터 1 cm정도까지 올 때까지 전기영동하였다. 전기영동이 끝나면 gel plate를 electrode assembly에서 꺼내어 조심스럽게 spacer를 제거하고, 밀착된 gel plate를 천천히 분리시켜 gel을 얻었다. 분리된 gel을 Coomassie Brilliant Blue R250에 24시간 동안 담가 염색시킨 후, methanol/acetic acid solution에 7시간 동안 담가 탈색시켰다. 깨끗이 탈색시킨

후, band 형성 여부를 size marker와 비교하여 분자량을 확인, 비교 분석하였다.

3. 타액내 단백질의 정량 분석

다발성 치아우식증을 가진 소아 10명과 우식이 없는 정상 소아 10명의 타액을 Bradford의 방법⁹⁾으로 정량분석하여 두 집단간에 단백질량의 차이가 있는지 알아보기 위해, unpaired t-test로 통계처리 하였다. 한편, P값 0.24 이하를 통계적으로 유의한 수준으로 판정하였다.

III. 연구 성적

실험 재료 및 방법에서 전술한 기준에 의해 선정된 총 30명의 다발성 치아우식증 소아와 우식이 없는 정상 소아로부터 채집한 이하선 타액과 전타액을 전기영동으로 분석하여 얻어진 gel을 Coomassie Brilliant Blue R250 (Acid Blue 83으로도 알려진 triphenylmethane textile dye)으로 염색하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

가. 전기영동에 의한 전타액 단백질의 분리

1. 다발성 치아우식증 소아와 우식이 없는 정상 소아에서 전타액 단백질의 분석

그림 2에서와 같이 다발성 치아우식증 소아 집단에서는 분자량이 약 120 KDa 가량되는 위치에서 굵고 선명한 단백질 Band가 나타났으나, 반면 우식 없는 소아 집단에서는 14 명에서 이 위치에 전혀 단백질 band가 나타나지 않거나, 있어도 그 굵기나 농도에 있어서 아주 미약한 정도로 나타났다 (그림 2). 그러나, 1명에서만 예외적으로 뚜렷한 단백질 band를 보였다.

2. 우식증이 없는 소아와 성인 타액 단백질의 비교

특정한 부위에서의 단백질 Band의 차이는 없었다. 120 KDa 정도 위치에서는 두 집단 모두에서, 단백질 Band가 나타나지 않았다 (그림 3). 즉, 우식이 없는 사람에서의 전타액 단백질에서는 다발성 치아우식증이 있는 소아에서 발견되었던 120 KDa 단백질이 나타나지 않았다.

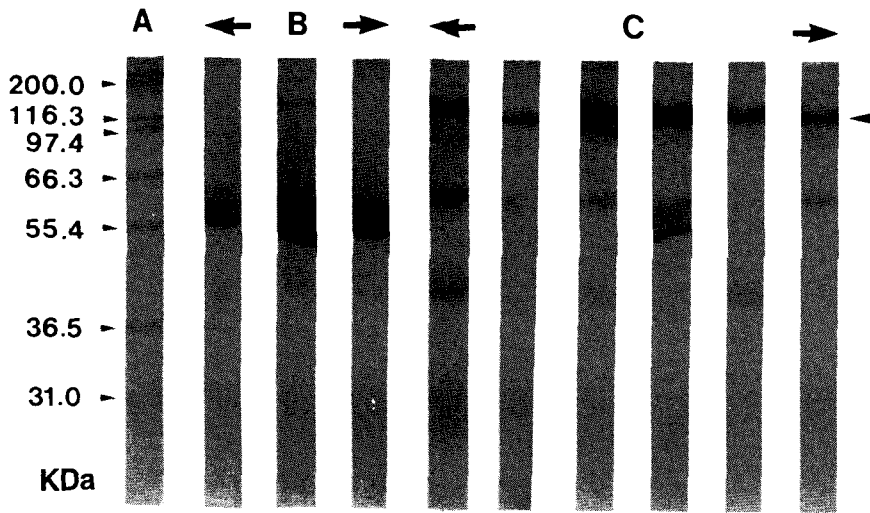


그림 2. 다발성 치아우식증 소아와 정상 소아 전타액의 전기영동결과. 다발성 치아우식증 소아에서는 분자량 약 120 KDa 정도의 단백질 band(←)가 관찰된다. A는 size marker, B는 우식이 없는 정상 소아, C는 다발성 치아우식증이 있는 소아.

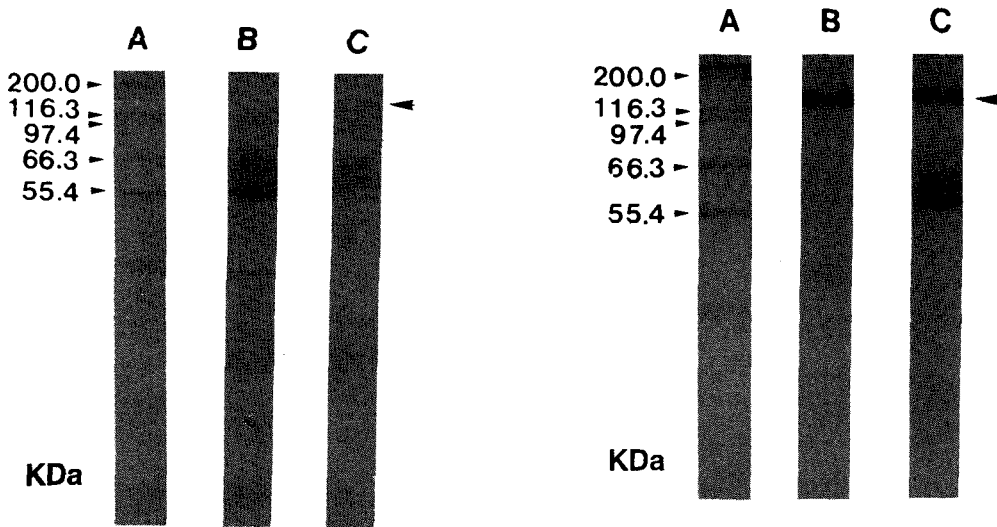


그림 3. 우식이 없는 소아와 성인의 전타액 전기영동 결과. 분자량 120 KDa 정도의 (←표시된) 부위에서 단백질 band가 나타나지 않고 있다. A는 size marker, B는 우식이 없는 정상 소아, C는 우식이 없는 정상 성인.

그림 4. 다발성 치아우식증 소아의 치료전, 후 전타액을 전기영동한 결과. 치료전, 후 모두에서 분자량 120 KDa 정도의 단백질 band (←표시된 부위)가 나타나고 있다. A는 size marker, B는 다발성 치아우식증 소아의 치료전, C는 다발성 치아우식증 소아의 치료후.

IV. 총괄 및 고찰

나. 다발성 치아우식증 소아의 치료전·후 전타액의 전기영동 결과(그림 4)

다발성 치아우식증 소아 중 3명에 대하여, 우식에 대한 치료를 완료한 후, 전타액을 채집하여 분석하고 치료 전과 비교하였을 때, 두 경우 모두에서 120 KDa 정도 위치에서 뚜렷한 단백질 Band를 나타내었다. 즉, 다발성 치아 우식증이 있는 소아에서는 치료전에 발견된 120 KDa 단백질이 치료후에도 여전히 존재하였다.

다. 이하선 타액의 전기영동 결과

이하선 타액을 전기영동하여 보았을 때, 다발성 치아우식증 소아와 우식이 없는 정상소아 집단간에 특정한 부위에서의 단백질 Band의 차이를 보이지 않았다. 즉, 이하선 타액에서는 전타액에서 발견된 120 KDa 단백질이 두 집단 모두에서 나타나지 않았다.

라. 타액내 단백질의 정량분석

다발성 치아우식증 소아 10 명과 우식이 없는 정상 소아 10 명의 전타액 단백질을 Bradford³⁾의 방법으로 정량 분석하였다. 그 결과 표 1에 나타난 바와 같이 다발성 치아우식증 소아 집단의 단백질량은 평균 4.25 ± 1.05 mg/ml로서, 우식이 없는 정상 소아의 경우 (평균 2.50 ± 0.50 mg/ml)에 비해 높은 단백질 농도를 보였지만, 유의한 차이는 없었다 (unpaired t-test, $p < 0.24$).

표 1. 다발성 치아우식증 소아와 우식이 없는 정상 소아에서의 전타액 단백질의 정량 분석

	단백질 농도(mg/ml)
우식이 없는 정상 소아	2.50 ± 0.50
다발성 치아우식증 소아	4.25 ± 1.05

구강내에서 타액은 우식에 대한 치아의 방어에 중요한 역할을 담당한다.^{30, 35, 48, 49)} 그러나 우식 발생 요소 중 숙주인자, 즉 타액이 치아의 우식 방어기전에 어떻게 관여하고 있는 지는 아직 뚜렷하게 밝혀내지 못하고 있다. 이는 여러 가지 측면에서 연구상 난점이 따르기 때문인데, 우선 치아 우식 그 자체가 다인자성 질환이므로, 어떤 한 요인이 그 질환에 기여하는 기전을 알아내기 어렵고, 둘째로, 타액 역시 다양한 성분으로 구성되어 있으며, 그 성분이 타액의 분비율, 자극의 성질, 자극 기간, 타액 채취를 하루 중 언제 하였는지 등에 따라 변하기 때문인데, 불행히도 많은 연구에서 이러한 변수들이 적절히 조절되지 못하였다. 셋째로, 타액은 주요 세 가지 타액선 및 많은 소타액선에서 나온 분비물의 혼합체이고, 각 타액선의 성분은 저마다 고유한 조성을 지니기 때문에 결과에 대한 분석 역시 어렵게 하고 있다. 이러한 여러 가지 어려움에도 불구하고 타액의 우식 방어 요소로서 타액의 역할에 대해 밝히려는 꾸준한 노력이 계속되고 있다.^{24, 27, 32)}

타액의 우식 방어요소는 크게 면역계와 비면역계를 포함한다.^{30, 35)} 필요에 따라 만들어지는 ("made-to-order") 면역계에서는 주로 타액내의 secretory Ig A에 의하며^{30, 49)}, 이미 그 요소가 만들어져 있는 ("ready-to-wear") 비면역계에서는 점액 당단백질 (mucus glycoprotein)이 주요 역할을 하게 된다.^{30, 35)} 이 고도로 glycosylation된 당단백질은 타액에 의한 응집 반응과 구강내에서부터의 세균의 제거에 참여한다고 알려져 있으며 이러한 세균의 제거과정은 중요한 의미를 가진다. 즉, 우식 발생에 있어서, 세균이 조직에 군집을 형성하는 부착 과정은 많은 세균의 생존에 있어서, 여러 가지 측면에서 매우 중요한 과정으로 인식되었고, 이 과정과 세균제거 과정에 기계적, 면역학적 및 비면역학적으로 개입하는 것이 타액의 방어체계의 주요 기능의 하나가 되기 때문이다.²⁶⁾

타액의 세균 및 식피에 대한 제거 작용은 크게 물리적인 타액의 유출 (physical salivary flow)

을 통한 제거와 세균을 응집시켜서 이를 제거하는 기전의 두 가지로 설명될 수 있으며, 물리적인 제거는 입술과 혀의 근육 활동에 의해 그 기능이 더욱 향진되어 다수의 유해한 세균을 치아와 점막 표면으로부터 효과적으로 제거하게 된다. 한편, 세균 응집 작용은 타액이 분자단위에서 세균과 상호 작용을 하는, 보다 직접적인 방법을 통하여 세균의 부착에 영향을 주게되는 기전이다. McNabb와 Tomashi (1981)는 Secretory IgA System의 주요 특성이 세균의 부착을 방해하는 능력이라고 하였으며³⁵⁾, 이러한 근거하에 우식에 대한 면역에 관심을 갖게 되었다. Ig A와 같은 주문 생산적 항체 외에도 이미 만들어져 있는 거대분자가 있는데, 이는 세균의 부착을 억제하거나 조직의 부착 부위에 대해 경쟁적으로 부착하는 특성을 가지며, 세균을 응집하여 더 이상 치아에 부착하지 못하게 하여, 뱉거나 연하하는 과정을 통하여 제거시키는 기능을 갖는다.

세균응집에 대한 많은 실험적 연구에서는 MG 1에 주로 관심을 기울여 왔으며, 이 mucin은 그 구조의 일부인 multiple complex oligosaccharide side chain에 다양한 요소가 결합할 수 있는 특성과 특유의 microheterogeneity로 인하여 세균과의 상호작용이 가능하게 된다.³⁶⁾ Slomiany (1986) 등은 공유결합된 지질의 양이 mucin의 성질에 영향을 주어, 세균의 상호작용에 영향을 준다고 보고하기도 하였다.³⁶⁾ 최근 *S. mutans*를 응집시키는데 매우 효과적인 또 다른 타액 단백질이 발견되기도 하였는데 (Babu 등, 1986)¹⁾ 이 단백질은 분자량 60 KDa 정도로 mucin보다 훨씬 작은 당단백질이며 그 응집 능력은 탄수화물 결정기 (carbohydrate determinant)에 의해서 보다는 polypeptide를 매개로 이루어 진다고 하였다. 이 밖에도 lysozyme과 같은 작은 단백질이 세균을 응집시키며, 세균 세포막의 음전하에 calcium-bridging되는 등의 간단한 기전도 응집과정에 작용한다고 하였다 (Mandel, 1987).³¹⁾

이러한 이론적인 토대하에서 본 연구의 결과를 고찰해 볼 때, 다발성 치아우식증 소아와 우식이 없는 정상 소아의 타액을 전기영동하여

비교하였을 때 이하선 타액의 경우에는 두 집단간에 특정한 단백질 band의 차이가 나타나지 않았으나, 전타액을 전기영동한 결과 분자량이 약 120 KDa 가량되는 단백질 band의 출현에 있어 두 집단간에 뚜렷한 차이를 보였다 (그림 2). 즉, 이 단백질 band는 다발성 치아우식증 소아에서는 모두 굵고 명확하게 나타나는 반면, 우식이 없는 정상 소아에서는 한 명을 제외하고는, 없거나 있어도 가늘고 불분명한 band로서 나타났는데, 이러한 결과로부터 이 동정 (identification)되지 않은 단백질에 대하여 몇 가지 추론을 할 수 있다. 우선, 이 단백질이 우식 진행과정에 개입하여 어떤 영향을 미칠수 있다는 것인데, 세균 응집 과정과 연관을 시켜 본다면 이 단백질이 다발성 치아우식증 소아에서 나타난 것으로 보아 세균의 응집에 관여하는 단백질의 역할을 방해하였을 가능성이 있다는 것이다. 이 단백질이 어떤 단백질인지는 아직 동정하지 못하였으나, 이 정도의 분자량을 가진 단백질로서 타액과의 연관성이 밝혀진 단백질로는 분자량 약 130-150 KDa 정도되는 MG2를 생각할 수 있는데⁴⁶⁾, 이 단백질은 구강내에서 특별한 보호작용을 지니는데, 그 중 하나로서 병원균에 대해 응집을 일으켜 부착하기 어려운 조건을 만들므로써 세균을 제거하는 작용을 지닌다고 보고되고 있으며, 우식 활성이 높은 집단과 낮은 집단에서 이 MG2의 함량을 분석한 Piotrowski 등 (1992)은 우식 활성이 낮은 집단에서 이 단백질의 함량이 높은 것을 관찰하고, MG2의 함량이 높을 때, 세균 응집 능력이 큰 것으로 추론하였다. 반면 본 연구에서는, 규명되지 않은 단백질이 다발성 치아우식증 소아 즉, 우식 활성이 높은 소아에서만 선명히 나타났으므로 알려진 mucin의 작용과는 반대의 결과를 보였다. 따라서, 이것이 mucin과는 다른 단백질인지, 아니면 같은 것인데 어떤 조건이 달라 다른 방식으로 기능했는 지에 대해선 아직 정확히 알 수 없다. 그러나, mucin처럼 명확히 두 집단간의 차이를 보이면서 상반된 작용을 보인 것으로 보아, 적어도 mucin의 작용을 방해하거나 또는 어떠한 복잡한 기전을 통해 관계할 가능성이 있음을

배제할 수 없다는 것이다. 그러므로 앞으로 이 단백질에 대한 동정 및 mucin과의 연관성에 대한 역할을 규명하는 작업이 필요하리라고 생각된다.

또 한가지 가능성은 다음과 같은 연구에 기초하여 추론해 볼 수 있는데, 최근 우식 활성이 다른 두 집단간에 MG1의 함량은 비슷하나 MG2의 함량이 우식 비활성군에서 더 높은 것으로 보아, 두 집단간에 전체적인 mucin함량의 차이는 없고, MG1을 MG2로 분해시키는 단백분해효소 (protease)의 기능이 우식 비활성군에서 더 크기 때문에, 이 집단에서 세균 응집능에 유리한 형태인 MG2 형태가 많아짐으로써 우식 저항성이 커진다고 설명하는 문헌도 있었다.⁴⁰⁾ 또한, 타액내 점액 당단백질과 연관된 지질 및 공유 결합된 지방산이 mucin의 성질에 영향을 주어, 두 집단간의 우식 저항성에 차이가 난다고 하여, 우식 저항성을 결정하는 인자로서 지질을 강조한 연구도 있었다.⁴¹⁾ 위의 여러 가지 연구를 통해 두 집단간에 몇가지 차이점을 보였는데, 본 연구에서 차이를 보인 단백질이 이들 즉, 단백분해효소나 당단백질에 공유결합된 지질의 작용기전에 관여하였을 수 있다는 가능성도 생각해볼 수 있으며, 역시 이에 대해서도 보다 심도있는 연구가 필요하리라고 사료된다.

본 연구를 계획하고 실험을 하는데 있어서 특별히 고려할 점이 몇가지 있었다. 먼저, 대상을 선정하는 기준에 관한 문제이다. 다발성 치아우식증 소아집단을 우식경험 치아수가 17개 이상인 소아로 선정하였는데, 우식 경험치아수를 기준으로 한 것은 Klein (1938)이 주장한 대로, 치아우식증은 축적성 질환이므로 치아우식증의 정확한 이환상태를 알려면 우식 경험치아를 조사하는 것이 가장 객관적이고 바람직한 방법이라고 생각되었기 때문이다. 또한, 기준이 되는 우식경험치아수가 17개 이상인 것은 가능한 한 우식에 이환된 치아수가 많은 소아를 선택하므로써 다발성 치아우식증의 전형적인 양상을 반영하기 위함이었으며, 이는 기존의 연구들에서 사용한 기준 (우식 경험치아수가 6-14 개이상)에 비해 보다 우식 감수성이 높은 집단의 특성에 충실한 기준으로 생각되어

그 의의가 있다고 하겠다. 두 번째로, 다발성 치아우식증 소아와 우식이 없는 정상 소아간에 단백질 성분에 차이를 보인 타액성분의 순수성에 관한 문제이다. 본 연구는 우식활성에 차이가 있는 두 집단간에 숙주 개체의 타액 자체내에 고유하게 지니는 특성을 밝히고자 시도된 것인데, 결과적으로 차이를 보이는 단백질이 전타액으로부터 나온 결과이므로 순수한 타액 성분만 분리된 것이 아닐 수 있다는 문제점이 있을 수 있다. 즉, 타액 채집시 구강내에 있던 다른 성분의 차이가 결과적으로 나타난 것일 수 있다는 것인데, 예를 들면 다발성 치아우식증 소아의 활동성 우식 병소로부터 어떤-주로 세균 기원의- 물질이 분리되어 구강내에 존재하다가 함께 채집된 것일 가능성을 배제할 수 없다는 것이다. 따라서, 저자는 다발성 치아우식증 소아 15명 중 3명을 대상으로 우식에 대한 치료를 완료하여 구강내의 활동성 우식병소를 없앤 후에 다시 타액을 채집하여 분석하고, 이를 치료전의 결과와 비교하여 보았다. 이 때, 역시 분자량 120 KDa 정도되는 위치에서 뚜렷한 단백질 Band를 나타내므로써 치료전·후의 차이를 보이지 않았다. 이를 통하여 본 연구의 결과가 활동성 우식병소로부터 나오는 특성, 즉 세균기원의 특성일 가능성을 배제할 수 있었다. 세 번째로, 예외적인 결과를 보인 우식이 없는 1명의 소아에 관한 것이다. 우식이 없는 정상소아 중에서 유일하게 반대의 결과를 나타낸 한 명은 다른 소아과 비교할 때, 기록에 의하면 조건상의 별다른 차이점이 없었는데 그러한 결과를 얻게되어, 재실험을 하려하였으나 피치못할 이유로 재내원이 불가능하여 이러한 결과에 대한 원인을 추측하기 어려웠다. 만일, 실험 과정의 오차로 인한 것이라면 큰 문제점은 없겠으나, 별다른 오차없이 얻어진 결과라면 본 연구의 결과를 분석하는데 있어 또다른 어려움이 따르리라 생각된다. 마지막으로, 소아에서 실험한 본 연구의 결과로부터 얻어지는 이론의 일반화에 관한 문제이다. 즉, 본 연구가 소아를 대상으로 하였기 때문에, 성인에서의 우식을 포함하는 일반적인 우식증이 있는 사람에서와 차이점을 나타낸다면 이론이

일반화되기 어려우므로, 우식이 없는 성인의 타액도 채집하여 우식이 없는 소아와 비교분석하여 보았다. 결과, 특정 위치에서의 단백질 band에서 유의한 차이가 없었던 것으로 보아, 본 실험의 결과가 단지 소아에서만 나타나는 일시적인 현상은 아님을 시사해 준다고 하겠다. 그러나, 이들이 성장후에도 같은 부위에 단백질 Band를 지니는지에 대해서는 장기적인 재확인 이 필요하리라고 생각된다.

본 연구는 다발성 치아우식증 소아의 타액 단백질 성분을 분석하여, 우식증이 없는 정상 소아의 타액과 비교하고, 그 차이점을 이용하여 우식을 예견 내지는 예방하는 도구를 마련하는데 도움이 되고자 시도하여, 두 집단 사이에 뚜렷한 차이를 나타낸 단백질의 특성에 대해 고찰하였으며, 앞으로 이 단백질의 동정과 이의 역할에 대한 보다 심도있는 연구가 계속 필요 하리라고 생각된다.

V. 결 론

치아 우식은 미생물, 기질, 타액 등이 관여 하는 다인자성 질환이다. 그 중 숙주인자에 해당하는 타액이 중요한 역할을 한다는 것은 이미 잘 알려진 사실이며, 오래 전부터 타액의 물리·화학적 성질이 우식의 발생 및 진행에 어떤 영향을 미치는지에 대한 연구가 진행되어 오고있다. 최근에는 우식 활성이 높은 개인의 타액과 우식이 없는 개인의 타액을 다각적으로 비교하여 이들 사이의 차이를 설명해 나감으로써, 우식의 발생 및 진행에 관여하는 타액의 역할을 이해하려는 시도가 이루어지고 있으나, 아직도 타액이 어떻게 우식 저항성에 영향을 주는 지에 대하여 명확히 밝혀지지 않은 상태이다. 이에 본 연구에서는 2-5세의 전신질환이 없는 건강한 소아로서, 다발성 치아 우식증이 있는 소아 15명, 우식이 없는 정상 소아 15명에서 전타액과 이하선 타액을 채집하여, polyacrylamide gel electrophoresis(PAGE)를 시행한 다음, 단백질 조성을 비교하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 이하선 타액을 전기영동한 결과, 다발성 치아 우식증 소아와 정상 소아간에 단백질 조성의 차이가 없었다.
2. 다발성 치아 우식증이 있는 소아의 전타액에서 분자량 약 120 KDa 정도되는 단백질이 나타난 반면에, 우식이 없는 정상 소아에서는 이 단백질이 관찰되지 않았고, 있어도 흐리거나 불분명하였다 (단, 15명 중 1명에서만 예외적으로 뚜렷한 단백질 Band를 나타내었다.).
3. 다발성 치아우식증을 가진 소아의 치료 전·후 전타액내 단백질 조성을 비교하였는데, 두 경우 모두에서 약 120 KDa 정도의 선명한 단백질 band를 보였다.
4. 우식이 없는 정상 소아 전타액의 단백질 조성은 건강한 성인과 동일하였다.
5. 다발성 치아우식증 소아의 단백질은 정상 소아의 그것과 비교하여 유의한 차이가 없었다.

이상의 결과를 종합하여 보면 다발성 치아 우식증 소아의 타액에서 관찰된 분자량 120 KDa가량의 단백질이 치료 후에도 여전히 나타난 것으로 보아, 적어도 이 단백질은 타액 채집시 우식병소의 존재 여부에 상관없이 나타나는 현상으로 여겨진다. 따라서 다발성 치아우식증 소아에서 관찰된 특정한 타액 단백질, 즉 분자량 120 KDa정도되는 단백질은 우식 발생 및 진행과정에 관여할 것으로 추측되며, 앞으로 이 단백질의 동정 및 역할에 대한 깊이있는 연구가 필요하리라고 생각된다.

참고문헌

1. Babu, J.P. Beachey, E.H. : Hasty, D.L. and Simpson, W.A. : Isolation and characterization of a 60-Kilodalton salivary glycoprotein with agglutinating activity against strains of *Streptococcus mutans*. *Infect. Immun.* 51 : 405-413, 1986
2. Billings, R.J. : Saliva flow and dental caries. in Bowen, W.H., Tabak, LA, Editors.

- Cariology for the nineties. Rochester : Univ. of Rochester Press. 235–247, 1993
3. Bradford, M : Anal. Biochem., 72, 248, 1976
 4. Burt, B.A., Ismail, A.I : Diet, nutrition, and food cariogenicity. J. Dent. Res. 65 : 1475–84, 1986
 5. Carter, W.J : Englander, H.R. : Weber, T. B. : Chloride levels in parotid secretion. J. dent. Res. 37 : 902–905, 1958
 6. Cowman, R.A : Differential utilization of proteins in saliva from caries-active and caries-free subjects as growth substrates by plaque-forming Streptococci. J. Dent. Res. 58(10) : 2019–2027, 1979
 7. Curby, W.A : Device for collection of human parotid saliva. J. Lab. Clin. Med. 41 : 493, 1953
 8. Daculci, G. Legeros, R.Z. Jean, A. Kerebel, B : Possible physico-chemical process in human dental caries. J. Dent. Res. 66 : 1356–1359, 1987
 9. Dawes, C : Inorganic Constituents of saliva in relation to caries, Cariology Today Int. Congr., Zurich , pp.70–74, 1983 (Karger, Basel 1984)
 10. Dawes, C : The effect of diet on salivary secretion and compositions. J. Dent. Res. 49 : 1263–1272, 1970
 11. Dawes, L : A mathematical model of salivary clearance if sugar from the oral cavity. Caries Res. 17 : 321–324, 1983
 12. Edgar, W.M : Saliva stimulation and caries prevention. Adv. Dent. Res. 8(2) : 239–245, 1994
 13. Ericsson, Y : Clinical Investigation of the salivary buffering action. Acta Odontol. Scand. 17 : 131–165, 1959
 14. Ericsson, Y : Salivary and food factors in dental caries development. Int. Dent. J. 12 : 476–495, 1962
 15. Frank, R.M : Structural events in the caries process in enamel, cementum and dentin. J. Dent. Res. 45, 503–11, 1966
 16. Glass, R.L : The first International conference on the declining prevalence of dental caries. J.dent. Res. 61 : special issue. pp.1304–1383, 1982
 17. Haikel, Y. Frank, R.M. Voegel, J.C : Scanning electron microscopy of human enamel surface layers of incipient carious lesions. Caries Res. 17 : 1–13, 1983
 18. Hay, D.I : Specific functional salivary proteins. Cariology Today. Int. Congr., Zurich 1983, 98–108. (Karger, Basel 1984)
 19. Holloway, P.J : Epidemiology : summary of discussion, Cariology Today. Int. Congr., Zurich 1983, 328–331. (Karger, Basel 1984)
 20. Holmen, L. Thystrup, A. Artun, J : Clinical and histological features observed during arrestment of active enamel caries lesions *in vivo*. Caries Res. 21 : 546–54, 1987
 21. Holmen, L. Thystrup, A : Natural caries development and its arrestment. In : Leach, S.A., ed. Factors relating to demineralization of the teeth. London : IRL Press, 1986 : 139–52.
 22. Johnson, N.W. Taylor, B.R. Breman, D.S : The response of deciduous dentin to caries studied by correlated light and electron microscopy. Caries Res. 3 : 348–68, 1969
 23. Keyes, P.H : Infectious and transmissible nature of experimental dental caries. Arch. Oral Biol. 1 : 304, 1960
 24. Mandel, I.D. Zengo, A.N : Genetic and chemical aspects of caries resistance In : H, Mergenhagen S, eds. Comparative immunology of the oral cavity. Washington, D.C. : U.S. Government primary Office : 118–37, 1973
 25. Mandel, I.D. Zengo, A.N : Genetic and

- chemical aspects of caries resistance : in Mergenhagen, Scherp, Comparative immunology of the oral cavity. DHEW Publ. (NIH) 73-438 (public Health Service, Bethesda, 1973)
26. Mandel, I.D. and Ellison, S.A : The biological significance of the nonimmunoglobulin defence factor. In : The lactoperoxidase system, K.Pruitt and J.D.Tenouvu, Eds., New York : Marcel Dekker, pp.1-14, 1985
 27. Mandel, I.D : Impact of saliva on dental caries. *Compend. contin. Educ. Dent.* 1989 : (supplement 13) : S476-81
 28. Mandel, I.D : Nature vs Nurture in dental caries. *JADA* vol.125, Oct., pp.1345-1351, 1994
 29. Mandel, I.D : Saliva and dental caries, *Cariology Today, Int. Congr.,Zurich*, pp.332-339, 1983 (Karger, Basel 1984)
 30. Mandel, I.D : The function of saliva. *J. Dent. Res.* 66 : 623-635, 1982
 31. Mandel, I.D : The function of saliva : *J. Dent. Res.* 66 (spec. Iss.) : 623-627, Feb, 1987
 32. Mandel, I.D : The role of saliva in maintaining oral homeostasis. *JADA.* 119 : 298-304, 1989
 33. Mandel, I.M : Relation of saliva and plaque to caries. *J. Dent. Res.* 53 : 246-266, 1974
 34. Marlay, E : The relationship between dental caries and salivary properties at adolescence. *Aus. Dent. J.* 5 : 412-422, 1970
 35. McNabb, P.C. and Tomashi, T.B : Host Defense Mechanisms at Mucosal Surfaces, *Ann Rev Microbiol* 35 : 477-496, 1981
 36. Miller, W.D : A study of certain questions relating to the pathology of teeth. *D. Cosmos* 46 : 981-1001, 1904
 37. Newburn, E. : *Cariology.* Baltimore : Williams & Wilkins, 1978
 38. Newburn, E : *Cariology* 3rd ed. Quintessence books, pp29-52, 1989
 39. Nikiforuk, G : *Understanding dental caries. 1. Etiology and mechanisms basic and clinical aspects.* Basel : Karger, 1986
 40. Perinpanayagam, H.E.R. VanWuychhuyes, Z.S.Ji. Tabak, L.A : Characterization of low molecular-weight peptides in human parotid saliva. *J. Dent Res.* 74(1) : 345-350, 1995
 41. Pinkham, J.R : *Pediatric Dentistry,* 2nd Ed., Saunders Company, 1994
 42. Piotrowski, J : Identification of human salivary protease activity toward mucin : difference with caries. *Biochem. Int.* 28(6), 1992
 43. Pockerill, H.P : *The prevention of dental caries and oral sepsis* (Bailliere, Tindall & Cox, London 1912)
 44. Rosan, B. Applebaum, B. Golub, E. Malamud, D. and Mandel, I.D : *Infect. Immun.* 38 : 1056-1059, 1982
 45. Rosan, B : Enhanced saliva-mediated bacterial aggregation and decreased bacterial adhesion in Caries-resistant versus caries-susceptible individuals. *Infection and immunity Dec.*, pp.1056-1059, 1982
 46. Scanniapico, F.A : Saliva-Bacterium interactions in oral microbial ecology. *Critical reviews in oral Biology and Medicine,* 5 (3&4) : 203-248, 1994
 47. Shannon, I.L : Salivary sodium, potassium and chloride levels in subjects classified as to dental caries experience. *J. Dent. Res.* 37 : 401-406, 1958
 48. Slomiany, B.L. Murty, V.L.N. Mandel, I.D. Zalensna, G. and Slomiany, A : Physicochemical characteristics of mucus glycoproteins and lipids of the human oral mucosal mucus coat in relation to caries susceptibility. *Arch. Oral Biol.* 34 : 229-337,

1989

49. Slomiany, B.L. Slomiany, A. and Mandel, I.D. in : Human saliva : Clinical chemistry and Microbiology (Tenouvo, J., Ed.) Vol.2, p. 121–145, CRC Press, Boca Raton, 1989
50. Slomiany, B.L. Murty, V.L.N. Zdebska, E. : Slomiany, A. Gwozdziński, K. and Mandel, I.D. : Tooth surface-Pellicle lipids and their role in the protection of Dental Enamel against lactic-acid diffusion in man, Arch. Oral Biol. 31 : 187–191, 1986
51. Slomiany, B.L. : Mucus glycoprotein of human saliva : differences in the associated and covalently bound lipids with caries. Biochem. Biophys. Acta. 882 : 18–28, 1986
52. Slomiany, B.L. : Physico-chemical characteristics of mucus glycoproteins and lipids of the human oral mucosal mucus coat in relation to caries susceptibility. Arch. Oral Biol. 34 : 229–237, 1989
53. Sreebny, L.M. : Chatterjee, R. : Kleinberg, I. : Clearance of sugar from the oral cavity. J. Dent. Res. 62 : 217, 1983
54. Sweeney, E.A. : Salivary flow and composition in relation to dental caries-methods and problems in studying this relationships in human and animals : in Kleinberg, Ellison, Mandel, saliva and dental caries. (Information Retrieval Inc., New York 1978)
55. Tabak, L.A. Levine, M.J. Mandel, I.D. and Ellison, S.A. : Role of Salivary Mucins in the protection of the oral cavity, J Oral Pathol 11 : 1–17, 1982
56. Tabak, L.A. : Role of salivary mucins in the protection of the oral cavity. J. Oral Pathol. 11 : 1–17, 1982
57. Tatevossian, A. Gould, C.T. : The Composition of the aqueous phase in human dental plaque. Archs. Oral Biol. 21 : 319–323, 1976
58. Weber, T.B. : The rate of flow of constantly stimulated parotid secretion in caries-free and caries-rampant groups. Rep.MR 005 (US Naval Training Center, Great Lakes, 1960)