

의치 구내염 환자에서 분리한 *Candida albicans*의 아크릴 수지에 대한 부착성과 타액 단백질과의 상호 관계

경희대학교 치과대학 치과보철학교실

오정환 · 최부병 · 최대균 · 우이형 · 이성복 · 권금록

I. 서 론

가철성 국소의치를 사용하고 있는 부분무치악 환자에 있어 의치의 장착 후 시간이 경과함에 따라 여러 문제점들이 나타나게 된다. 이 중 임상에서 자주 관찰되는 병증의 하나가 의치 구내염이며, 이는 의치로 인하여 구강 점막에 생기는 단순한 염증 또는 유두상의 염증¹⁾으로 대개는 조직의 저항력 감퇴와 상피 표면의 변화로 나타나는 구내 칸디다증의 한 형태이다. D. Charles²⁾는 'denture sore mouth'라는 용어로서 이 질환을 표현하면서 *Candida albicans*(*C. albicans*: 효모)가 원인균일 것이라고 제안하였다. 그 이후 의치 구내염 환자에서 이 효모의 양적인 증가가 계속해서 관찰되었고³⁾ 면역 형광법으로 의치 구내염 환자의 타액과 혈액에서 항체의 증가가 관찰됨으로써 *C. albicans*가 원인균임이 밝혀졌다⁴⁻¹¹⁾. 의치 구내염의 다른 원인으로는 의치로 인한 외상^{1,12)}, 레진에 의한 과민반응¹³⁾, 의치의 청결도^{14,15)}, 상악의치에서의 완압 공간⁶⁾, 취침시의 의치 장착⁴⁾, 그리고 장착 의치의 적합도¹⁰⁾ 및 교합의 부조화¹⁷⁾ 등 여러가지가 추론되고 있으나 감염의 저장소와 같은 역할을 하는 의치 내면에서 *C. albicans*가 흔히 나타나는 등^{5,10)}, 병소 점막에서 *Candida species*가 유의성있게 계속 많이 관찰된다는 선학들의 일관된 연구 결과로 미루어 볼 때 의치 구내염에서 *C. albicans*의 중요성을 뒷받침해 주고 있다.

그 동안 완전 무치악환자와 부분 무치악환자에 대한 보철 치료에 있어서 의치의 기계적인 요소에 대

해서는 많은 고찰이 있었으나¹⁸⁾ 의치와 타액 배출, 그리고 연조직과의 관계에 대한 고려는 이에 미치지 못하였다¹⁹⁾. 또한 타액막을 사이에 두고 점막과 접하고 있는 의치에서 구강 점막의 보호, 윤회작용, 항세균작용, 그리고 완충작용 등을 포함하는 보호기능과 아밀라제로 대표되는 소화작용, 수분대사의 조절, 배설작용, 그리고 맛을 느끼게 해주는 용매작용 등의 여러 기능을 가진 타액에 대한 고려가 간과되어 왔다. 이러한 타액의 성상과 양의 변화 결과로 구강 건조증, soreness, 의치의 유지저하, 작열감, 미각의 변화와 저작, 그리고 연하의 불편감 등을 야기할 수 있게 된다.

그리고 혈청과 같이 생체 재료에 피막을 형성하는 것으로 알려진 타액성분²⁰⁻²²⁾이 의치용 레진에 대한 *C. albicans*의 성공적인 집락의 전제조건이 되므로써 의치 구내염을 유발하는 중요한 과정으로 인식되어 의치에 대한 부착과 집락, 그리고 biofilm 형성에 대한 여러 연구가 이루어졌다²⁰⁻²²⁾.

그러나 이러한 대부분의 연구들이 상용의 대표 효모를 이용하였고, 그 대상도 효모와 타액의 채취가 비교적 용이하며 점막과의 접촉면적이 넓은 상악 의치와 구개선과 이하선에 편중되어왔다. 하악 의치에서는 악하선과 설하선의 영향으로 또 다른 현상을 보일 것으로 생각되며, 하악 의치와 타액과의 관계에 대한 연구도 알려진 바가 적어, 본 연구에서는 하악 의치 구내염에 이환된 각 개인의 악하선과 설하선 타액과 각 의치 구내염 환자의 효모를 이용하여 의치용 레진에 대한 *C. albicans*의 부착 능력의 차이를

비교 연구하여 다소의 지견을 얻었기에 보고하는 바이다.

II. 실험 재료 및 방법

1. 구강검사 및 문진

실험 대상자는 K 치과대학병원 보철과에 내원한 하악 부분 무치악 환자(남 9명/여 9명, 평균 57.4세)로서 의치 장착자의 나이, 성별, 의치 장착 년도, 밤과 낮의 장착 여부, 구내염의 유무, 흡연 여부와 빈도에 대한 구강검사와 문진을 시행하였다.

2. *C. albicans* 분리 배양 및 동정

1) 각 피검자의 *C. albicans*를 채취하기 위하여 임상적으로 의치 구내염으로 인정되는 대상자 중 구내염 이환측과 비이환측의 의치 내면부위에서 소독된 면봉을 이용하여 동일한 검사자가 10mm×10mm 면적(100mm²부위가 개방된 모눈종이를 이용)에서 일정한 힘으로 의치 치태를 3회 닦아내어 10ml의 Sabor-aud's dextrose 액체배지(*glucose 40g/l*, *peptone 10g/l*)에 넣고 60초간 흔들어 혼화한 후, 3시간 이내에 균액 0.2ml를 Saboraud's dextrose 한천 선택배지(*streptomycin sulfate 40μg/ml*와 *benzathine*

penicillin G 40unit/ml 함유)에 적하한 다음 균일한 혼합을 위해 배지 표면상에 유리구슬(*glass bead*)을 함께 넣고 잘 흔들어 균액을 배지위에 균일하게 도포하였다. 이후 37℃에서 24시간 동안 배양 후 나타난 집락수를 세어 미생물체의 수를 측정하였다(Fig. 1).

2) 한천 배지에 나타난 집락의 *C. albicans* 동정을 위하여 *germ tube test*를 시행하였다. 한 개의 Petri dish당 임의로 3개의 집락을 채취하여 3% tryptic soy 액체배지(Difco) 1ml에 담구어 37℃에서 2~3시간 배양시킨 후 광학현미경(CHK2-F3-100, Olympus Optical Co. Ltd., Taiwan)에서 1000배의 배율로 *C. albicans*의 특징적인 *germ tube* 형성(Fig. 2)을 확인하였다²³⁾

3) 효모의 배양 결과로 피검자들을 의치 구내염 증상이 있으며 *C. albicans*가 분리된 피검자를 group I, 구내염 증상은 있으나 *C. albicans*가 분리되지 않은 피검자를 group II, 구내염 증상은 없으나 *C. albicans*가 분리된 피검자를 group III, 그리고 구내염 증상도 없고 *C. albicans*도 발견되지 않은 건강한 피검자를 group IV로 분류하였다.

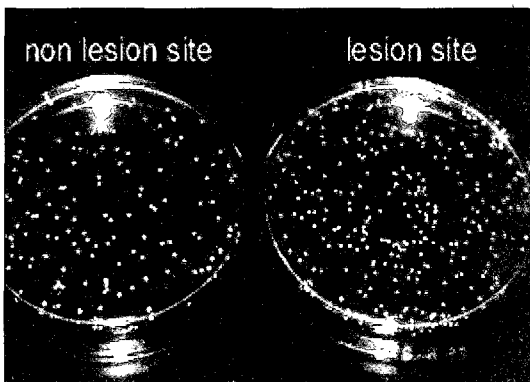


Fig. 1. Comparison of the result after 24 hours incubation. The result showed that a higher number of *C. albicans* was observed in the lesion site than non lesion site.

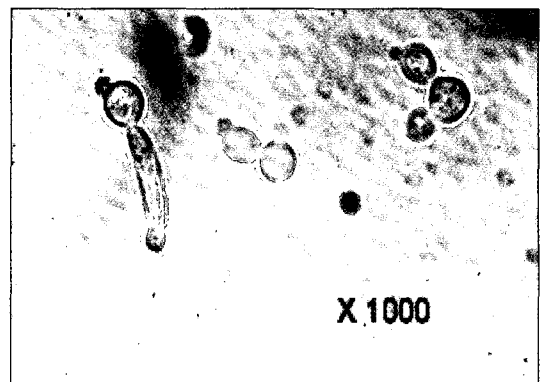


Fig. 2. Germ tube formation of *C. albicans* in the tryptic soy broth.

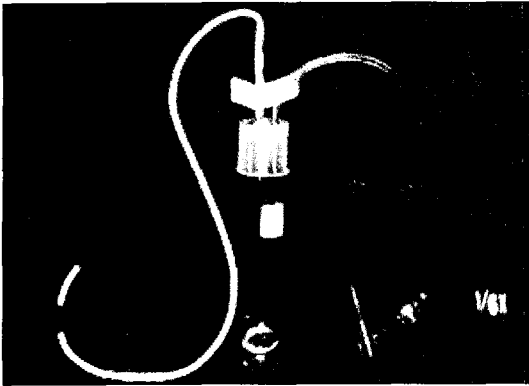


Fig. 3. A saliva collector of Modified Novel System



Fig. 4. Collection of submandibular and sublingual gland saliva

3. 타액 채취와 분석

1) 타액 채취

타액의 성분 검사를 위한 타액 채취는 타액 성분의 일중 변화를 표준화하기 위하여 의치치태를 채취한 같은 날 오전(아침 식사후, 점심 식사전)에 의치 장착자로부터 Modified Novel System(Fig. 3)을 이용, 2% 구연산으로 혀를 자극하며 거즈로 구개선과 이하선으로 부터의 타액을 격리하며 악하선과 설하선의 타액만을 개구부에서 1~1.5ml를 채취하였다(Fig. 4). 이후 수조(G76D; New Brunswick Science, Edison, N.Y., USA)에서 30분간 60°C로 가열하여 효소(아밀레이즈 등)의 작용을 정지시킨 다음 원심분리기(Sorval RC 5C-plus, Dupont, U.S.A.)를 이용하여 4°C에서 15분간 12000×g로 원심한 후 상층액만을 채취하여 -20°C의 냉동고에 보관하였다.

2) Lowry방법에 의한 총단백질량 결정

각 피검자 마다의 총 단백질 양의 측정을 위하여, 냉동된 타액상층액을 2시간에 걸쳐 얼음속에서 해동한 후²⁴⁾ 해동된 타액상층액을 분광광도계(Ultraspex 2000, Pharmacia Biotech Co., Cambridge, England)를 이용하여 Lowry방법에 따라 O.D₇₅₀(optical density at 750nm)에서 표준 용액과 비교하여 타액 상층액내의 총단백질량을 계측하였다²⁵⁾.

3) 당단백질과 단백질 분석

각 피검자의 타액 단백질 구성의 차이를 알아보기 위하여, 총단백질량이 균일하도록 계량된 타액상층액을 환원제인 β -mercaptoethanol이 포함된 sample 완충용액과 함께 전기영동기(Tall Might Small vertical slab gel unit, model SE280, Hoefer Scientific Instruments, Sanfrancisco, California, U.S.A.)를 이용하여 SDS-10% polyacrylamide gel상에서 전기영동을 실시하였다. 전기 영동후 gel은 당단백질 분석을 위해 PAS(Periodic Acid-Schiff)로 2시간 동안 염색하였으며, 다시 단백질 조성 분석을 위하여 Coomassie blue로 3시간 염색하였다. 염색후 gel은 탈색 용액(5% methanol, 7% acetic acid)에서 탈색 후 표준 단백질 표식을 참고로 하여 gel에 나타난 염색대를 비교하여 각 피검자별 단백질과 당단백질 크기와 조성의 차이를 관찰하였다.

4) Immunoblot 분석 (Western blot)

전기 영동후 나타난 염색대의 단백질 확인을 위하여, 타액을 전기영동 후 polyacrylamide gel내의 단백질을 Semi-Dry Blotting Unit(FB-SDB-2020 Fisher Biotech, Pittsburgh, U.S.A)을 이용하여 nitrocellulose membrane(0.45 μ m, Tran-Blot[®] Transfer Medium, Bio-Rad, California, U.S.A)에 옮긴 후 blocking buffer(Tris 0.02M, NaCl 0.5M, 1% bovine serum albumin(BSA))와 각 단백질에 대한 항체(rabbit anti-human IgA, rabbit anti-human lactoferrin, mouse anti-human secretory

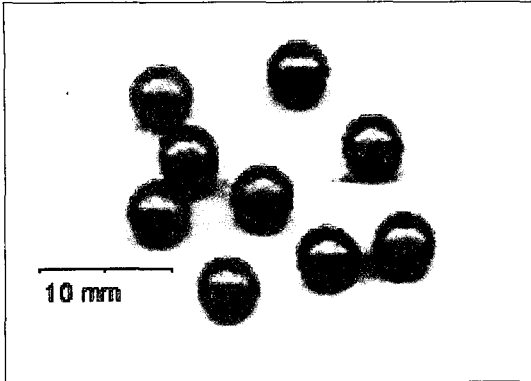


Fig. 5. Custom made acrylic resin beads

component(IgA; Sigma)로 하룻밤 처리한 후 Tris-Tween 20 washing buffer(Tris 1.21g, Tween 20 0.5ml, Na₂S₂O₃ 20g/l)로 수세한 다음 goat anti-rabbit 또는 goat anti-mouse (IgG)-horseradish peroxidase(HRP) conjugate를 넣고 1시간 동안 반응시킨 후 다시 Tris-Tween 20 washing buffer로 10-15분씩 5회 수세하였다. 수세된 nitrocellulose membrane을 10ml methanol(J.T. Baker, New Jersey, U.S.A)과 30 μ g HRP color development reagent(4-chloro-1-naphthol, Bio-Rad, California, U.S.A), 50ml TBS(Tris 0.02M, NaCl 0.5M), 600 μ l의 3% hydrogen peroxidase(MERCK, Germany)혼합액을 함께 배양하여 30분 이내에 나타나는 반응띠를 관찰하였다.

4. 의치레진(아크릴 수지) 시편에 대한 효모 부착 실험

1) 레진 시편 제작

아크릴 수지에 대한 각 피검자의 효모 부착 실험을 위하여 직경 5mm의 금속구를 함에 매몰하여 제거 후 의치용 레진(VERTEX, RS, heat curing, ISO 1567 type I class 1, Dentimax, Netherland)을 제조사의 지시에 따라 중합하여 레진 구슬(평균 표면적 95mm²)을 제작(Fig. 5)하였다. 금속구의 표면 성상을 보존하기 위하여 제작과정에서 발생한 fin만을 제거하였다. 온성 후 잔류부착물의 제거를 위하여 15분간의 초음파 세척 후 여분의 레진 용액의 제거를 위하여 1주일간 증류수에 보관하였다.

2) 피막 형성 레진 시편 준비

레진 시편에 타액 피막이 형성 되도록 하기 위하여 실험군 타액(각 피검자의 타액단백질 20 μ g)에 완충 KCl용액(KCl 0.05M, KH₂PO₄ 1mM, CaCl₂ 1mM, MgCl₂ 0.1mM)을 첨가하여 총 1ml가 되도록 조절한 후 레진 시편 4개와 함께 siliconized borosilicate culture tube(PGC Scientifics)에 넣고 함께 진탕배양기(180 rpm, Innova 4300: New Brunswick Scientific, New Jersey, U.S.A)에서 37 $^{\circ}$ C로 3시간동안 처리하였다. 대조군은 증류수와 완충 KCl용액으로 처리하였다.

3) 효모의 부착실험

피막이 형성된 레진 시편에 효모를 부착시키기 위하여 분리된 효모균 중 개개 환자마다의 한 균주씩을 취하여 37 $^{\circ}$ C Sabouraud's dextrose 액체 배지에서 호기 배양하여 초기정지기에 이르도록 19시간 배양된 효모(2.74×10^7 개/ml)를 3000 \times g로 원심 분리하고 완충 KCl용액으로 2회 세척한 후 O.D₅₈₀=1.0으로 조절하고 일정 효모 수(1.26×10^7 cell/ml)의 완충 KCl용액 1ml씩을 효모균이 분리된 동일인의 타액으로 표면 처리한 레진시편과 함께 진탕배양기에서 2시간 동안 37 $^{\circ}$ C에서 배양하여 효모가 타액 피막이 형성된 레진 시편에 부착되도록 하였다.

4) 부착된 효모량 측정

시편에 부착된 효모수의 측정을 위하여 효모가 부착된 레진 시편을 완충 KCl 용액으로 3회 세척하여 비특이적으로 부착된 효모균을 제거한 후, 레진 시편 표면에 계속 남아있는 효모는 1ml의 0.1M NaOH를 첨가하여 초음파로 40초간 진동시킴으로써 레진 시편으로부터 탈락시켜 이들의 양을 분광광도계로 O.D₅₈₀에서 측정하여 각 균을 비교하였다.

5) 특정 효모에 대한 부착능 검사

효모의 부착 능력에 있어 각 개체의 타액이 미치는 영향을 관찰하기 위하여, 상기의 결과 중 레진 시편에 대한 효모의 부착능이 가장 높게 나타난 개체 #2의 *C. albicans*를 이용하여 위의 효모 부착능 실험을 반복하였다.

Ⅲ. 연구 성적

1. 구강검사와 문진

하악 부분의치를 장착하고 있는 피검자들의 나이, 의치의 장착 습관, 성별, 그리고 흡연 여부에 따른 의치 구내염의 이환여부에 있어서의 상관성을 조사해 보았으나 위 항목에 대한 의치 구내염 이환율과의 상관관계를 발견할 수는 없었다(Table 1).

2. *C. albicans*의 배양결과

의치 내면 치태에서 분리된 효모의 24시간(37℃) 배양 결과(Table 2, Fig. 6), 피검자 #1과 #6의 의치

내면(100mm²)에서 비이환측에 비하여 이환측에서 10배이상의 균락수(9.1×10², 1.6×10³개)가 관찰되었고 피검자 #4, #5, #11, #12의 의치 내면에서는 비이환측에서 *C. albicans* 균락이 관찰되지 않은 반면에 이환측에서는 8.0×10~4.0×10³개의 균락이 관찰되는 등 이환측이 비이환 측에서 비교하여 최소 3.6배 이상이었다(Table 2).

3. 타액내 당단백질 분석

각 개체에서 동량(20μg)의 타액 단백질을 전기영동하여 PAS 염색한 결과(Fig. 7), I 군에 해당하는 피검자 #1, #2, #4, #5, #6의 타액에서 당단백질(MG1, mucin)에 해당하는 염색 띠의 폭과 농도가

Table 1. The results of oral examination and counselling of the experimental subjects.

subject	age	sex	blood type	night wear	smoking	stomatitis
#1	45	male	A	no	no	yes
#2	49	female	A	no	no	yes
#3	67	male	A	no	no	yes
#4	44	female	B	yes	no	yes
#5	53	female	B	no	no	yes
#6	41	male	O	yes	no	yes
#7	58	male	B	no	no	no
#8	52	male	A	no	no	no
#9	51	male	AB	yes	no	no
#10	59	female	AB	no	no	no
#11	45	male	O	no	no	yes
#12	69	female	A	no	no	yes
#13	49	male	B	no	no	no
#14	64	female	A	yes	no	no
#15	41	female	A	no	no	no
#16	47	female	A	no	no	no
#17	65	male	B	yes	no	no
#18	60	female	B	yes	no	no

* Based on the results of bacterial isolation and physical examination, patients were divided into 4 groups.

group I (#1, #2, #3, #4, #5, #6) : lesion with *C. albicans*

group II (#7, #8, #9, #10) : lesion without *C. albicans*

group III (#11, #12) : no lesion with *C. albicans*

group IV (#13, #14, #15, #16, #17, #18) : normal and healthy denture wearer

Table 2. The colony number of *C. albicans* isolated from denture stomatitis patients.

patient	group	infected site	healthy site
#1	group I	9.1×10^2	3.0×10^1
#2		5.5×10^2	1.0×10^2
#3		4.3×10^2	1.2×10^2
#4		6.4×10^2	0
#5		4.0×10^2	0
#6		1.6×10^2	6.8×10^2
#11	group III	2.2×10^2	0
#12		8.0×10^2	0

No./cm²

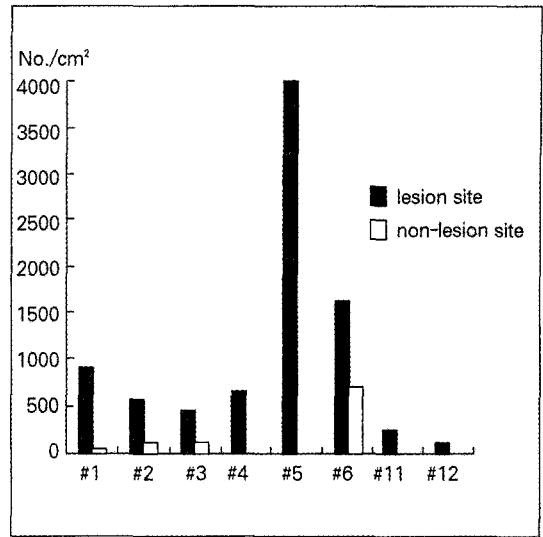


Fig. 6. The colony number of *C. albicans* isolated from denture stomatitis patients.

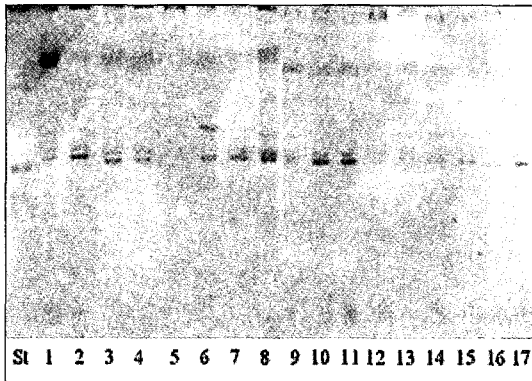


Fig. 7. SDS-PAGE analysis of saliva collected from different subjects. 20 μ g of each salivary protein was electrophoresed on SDS-10% polyacrylamide gels and stained with PAS.

St, standard protein marker. Lanes: 1~5, subjects #1, #2, #4, #5, #6; 6, 7, subjects #11, #12; 8~11, subjects #7, #8, #9, #10; 12~17, subjects #12, #13, #14, #15, #16, #17, #18.

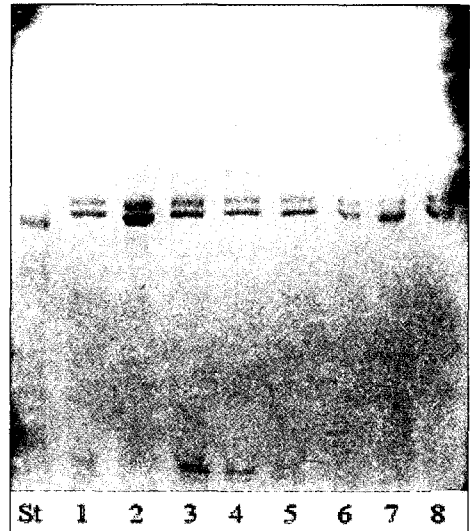


Fig. 8. SDS-PAGE analysis of saliva collected from different subjects. 20 μ g of each saliva protein was electrophoresed on SDS-10% polyacrylamide gels and stained with Coomassie blue. St, standard protein marker. Lanes: 1~4, subjects #2, #3, #4, #5; 5, subject #8; 6~8, subjects #13, #17, #18.

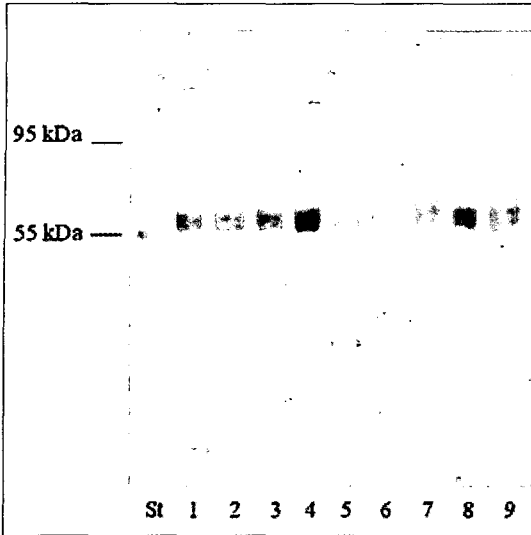


Fig. 9. Immunoblot analysis of individual salivas using anti-human IgA(α -chain). St, standard protien marke. Lanes 1~4: subjects #2, #3, #4, #5 ; 5, subject #8 ; 6~9, subjects #13, #16, #17, #18.

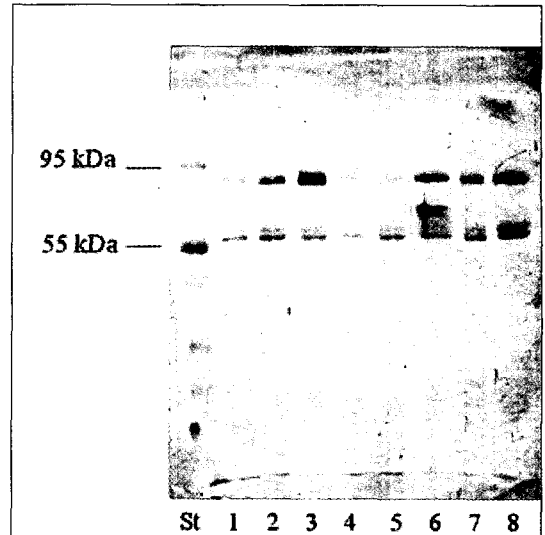


Fig. 10. Immunoblot analysis of individual salivas using anti-human lactoferrin. St, standard protien marker. Lanes 1~3: subjects #2, #3, #5 ; 4, subject #8 ; 5~8, subjects #13, #16, #17, #18.

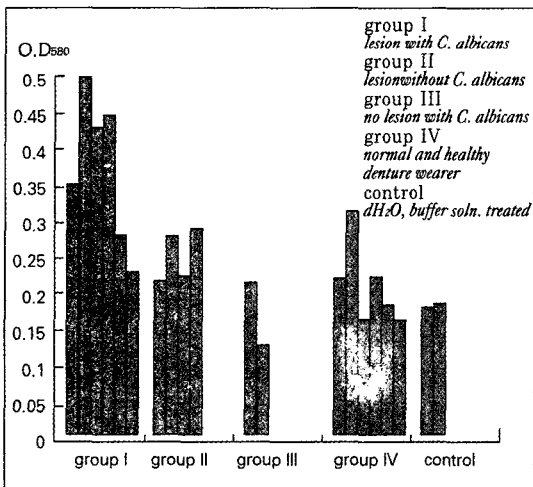


Fig. 11. O.D of the bound *C. albicans* isolated from individuals to acrylic resin beads coated with saliva from the respective individuals. The bound cells to the resin beads were washed KCl, treated with 1ml of 0.1M NaOH with sonication and then measured of their optical density at 580nm.

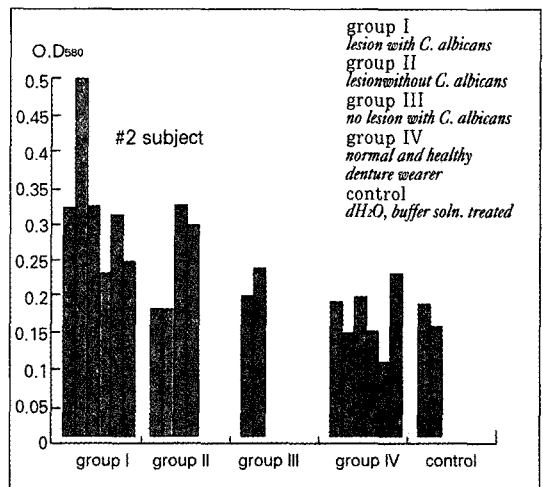


Fig. 12. O.D of bound cell of representative *C. albicans* to acrylic resin beads coated with saliva from different individuals. The bound cells of *C. albicans* isolated from individual #2 to the saliva coated beads were washed KCl, treated with 1ml of 0.1M NaOH with sonication and then measured of their optical density at 580nm.

Table 3. Grouping of individuals with different mean O.D₅₈₀ values of bound cells of individual *C. albicans* to acrylic resin beads coated with saliva from the same individuals by Duncan's analysis., (p<0.05)

	Mean(O.D ₅₈₀)	Duncan's grouping
group I	0.3627	#A
group II	0.2405	B
group III	0.1635	B
group IV	0.2037	B
control	0.1740	B

mean values of the bound cells (O.D₅₈₀) between groups in the same Duncan's group were not significantly different.

다른 군의 염색 결과에 비하여 뚜렷하게 나타났다.

4. 타액내 단백질 분석

각 개체에서 동량(20 μ g)의 타액 단백질을 전기영동하여 Coomassie blue 염색한 결과(Fig. 8), I군에 해당하는 피검자 #2, #3, #4, #5의 타액에서 83 kDa, 75 kDa에 해당하는 염색 띠가 다른 피검자에 비하여 뚜렷하게 나타났다.

5. Immunoblot 분석

타액 단백질 분석 결과의 정성적인 확인을 위하여 항체를 이용한 immunoblot을 시행한 결과, Coomassie blue로 염색된 띠중에 83 kDa에 해당하는 lactoferrin(Fig. 9)과 75 kDa에 해당하는 IgA(α -chain)의 띠 위치를 확인하였다(Fig. 10).

6. 효모 부착능 비교

각 피검자의 타액으로 처리된 의치용 레진 시편에 대한 같은 피검자에서 분리한 *C. albicans*의 부착 능력은 균액 O.D₅₈₀=1.0의 처리 후 부착되었다가 탈락된 효모의 양이 I군에서 평균 O.D₅₈₀=0.362(sd:0.104)로 다른 군(II군; O.D₅₈₀=0.242(sd:0.036), III군;

Table 4. Grouping of subjects with different mean O.D₅₈₀ values of the bound cell of representative *C. albicans* to acrylic resin beads coated with individual saliva by Duncan's analysis. (p<0.05)

	Mean(O.D ₅₈₀)	Duncan's grouping
group I	0.3133	#A
group II	0.2368	A B
group III	0.2080	A B
group IV	0.1440	B
control	0.1627	B

mean values of the bound cells (O.D₅₈₀) between groups in the same Duncan's group were not significantly different.

O.D₅₈₀=0.164 (sd:0.06), IV군; O.D₅₈₀=0.204 (sd:0.056), 대조군; O.D₅₈₀=0.174(sd:0.003))에 비하여 높게 나타났으며(Fig. 11) Duncan's test로 유의차가 있는 군 간의 grouping을 시행한 결과(Table 3), I군에 해당하는 피검자에서의 효모 부착능이 다른 군에 비하여 유의성(p<0.05)있게 높은 것으로 나타났다. 효모의 부착 능력에 있어 각 개체의 타액이 미치는 영향을 관찰하기 위해 각각의 타액으로 피막된 레진 시편에 위 실험에서 가장 부착능이 우수했던 피검자 #2의 효모를 선택하여 부착시킨 결과, 피검자 #2의 타액을 사용했을 때 전체 평균(O.D₅₈₀=0.227)보다 뛰어난 부착능력(O.D₅₈₀=0.488)을 나타냈다(Fig. 12). 이 역시 군 간의 유의차를 검사한 후 Duncan's test로 유의차가 있는 군 간의 grouping을 시행한 결과(Table 4), I군의 부착능력이 정상인으로 구성된 IV군(평균 O.D₅₈₀=0.163, sd:0.043)과 완충액과 증류수로 이루어진 대조군(평균 O.D₅₈₀=0.164, sd:0.021)에 비하여 유의성(p<0.05)있게 높은 것으로 나타났으나, II군(평균 O.D₅₈₀=0.237, sd:0.075)과 III군(평균 O.D₅₈₀=0.208, sd:0.025)과의 비교에서는 유의성을 관찰할 수 없었다.

IV. 총괄 및 고찰

의치 구내염은 구강내 병증 중 의치의 장착 후 구강점막에 생기는 erythematous pathogenic condition²⁶⁾으로서 만성 위축성 칸디다증으로 분류되며, 의치에 대한 집락 형성과 점막 조직에서의 양적인 증가를 보이고 혈액과 타액에서 높은 항체 역가가 나타나는 *C. albicans*가 주원인으로 받아들여지고 있다²⁷⁻³⁰⁾. 구강내 *Candida*의 감염은 구내상주균⁶⁾인 *C. albicans*가 의치장착, 구강내 포도당 농도의 증가, 그리고 타액의 pH저하 등 효모가 잘 증식할 수 있는 조건이 형성되어 양적인 증가가 동반된다고 알려져 있다. 효모의 양적인 증가를 평가하는 방법으로는 foam pad 등을 이용한 imprint배양법¹¹⁾과 도말배양법^{17,31)}이 사용되어 왔고 정량적인 면에서 imprint법이 신뢰도가 있는 것으로^{1,6)} 보이나, 본 연구의 대상인 하악의치에서는 효모 채취 면적의 한계로 인하여 도말법을 이용하였다.

의치 하방 점막의 불규칙한 발적과 부드러운 백색막으로 덮힌 케양, 그리고 다발성 흰색반점 등을 기준^{7,32)}으로 진단한 의치 구내염 환자의 하악 의치내면에서 채취 후 배양한 미생물의 균락 수가 비이환측과 비교하여 이환측에서 최소 3.6배 이상 많은 것으로 관찰되었다(Table 2). 의치 구내염으로 진단되지 않은 III군의 피검자들에 비하여 I군 피검자들에서 상대적으로 많은 수의 효모가 발견되었다. 이는 의치 적합면에서 많은 양의 효모가 자라게 되어 상악 의치 구내염 환자가 발생한다는 보고와 구내염 이환측의 효모수가 비이환측보다 많다고 보고한 선행들의 결과와 일치됨을 보여준다^{1,3,30,33)}. 증가된 *C. albicans*의 양을 의치 구내염의 진단 방법으로 제시하여 진단의 기준을 약 10^5 cell/cm²이라고 보고한 연구^{7,34,35)}도 있었지만 평균적인 효모 수에 따른 진단은 본 실험에서 배양된 균락 수의 각 피검자에 따른 차이(Fig. 6)로 볼 때, 피검자 사이의 다양한 환경조건과 방어기전의 차이로 인하여 절대적인 기준으로서의 가치에는 한계가 있다고 판단되었다.

선행들의 연구에서 다양한 선택 배지들이 사용되었으나 본 실험에서는 예비실험을 통하여 50 μ g/l의 chloramphenicol³⁶⁾을 첨가한 Saboraud's dextrose 배지 또는 40 μ g/ml의 streptomycin sulfate과 benzathine penicillin G 40 unit/ml가 첨가된 Saboraud's

dextrose 배지를 사용하여³⁾ 채취한 효모를 배양한 결과, chloramphenicol 선택배지의 경우는 *C. albicans* 이외에 소량의 다른 구균과 간균의 균락도 관찰된 반면 streptomycin sulfate와 benzathine penicillin G가 첨가된 배지에서는 *Candida*만 관찰되어 선택 배지로 사용하였다. 그리고 예비실험의 과정에서 구내염을 가진 피검자에서 구균과²¹⁾ 간균을¹⁹⁾ 포함한 다른 균주의 개체수도 이환측에서 많은 것으로³⁷⁾ 관찰되어 *C. albicans*만이 의치 구내염의 유일한 미생물적 원인이거나 직접적인 이유라고 단정할 수는 없는 것으로 보인다. 때문에 구내염의 부가적 원인을 설명하기 위하여 추후 점막의 염증과 관련된 균주를 포함한 보다 다각적인 연구가 필요하리라 사료된다. 선택 배지상에 분리된 균주가 *C. albicans*임을 확인하기³⁸⁻⁴⁴⁾ 위해 한 개의 Perti dish 당 임의의 3개 집락을 취하여 시행한 germ tube test⁴⁵⁻⁴⁷⁾는 peptone 용액과 tryptic soy 액체배지에서 효모에서 핵산과 단백질 합성이 증가하며 나타나게 되는 세포형태의 변화를 관찰하는 방법으로 *C. albicans*의 동정²³⁾에 사용될 수 있는 신뢰할 만한 방법이다. 그리고 본 실험에서는 psuedonegative germ formation을 방지하기 위해서²³⁾ tryptic soy 액체배지에 접종시 초기 효모 농도를 10⁶개/ml이하²³⁾가 되도록 조절하였다.

그동안 대부분의 가철성 보철물에 대한 조사 연구가 basal seat의 움직임 최소화하기 위한 의치제작시의 디자인이나 악운동, 교합문제 등의 직접적인 기술에 대하여 이루어져 의치의 기계적인 요소와 운동역학적 요소가 많이 살펴져 왔기 때문에 부분 무치악 환자의 타액 분비와 연조직에 관계된 의치의 생물학적인 관점에 대하여는 비중을 두고 인식되어 오지 않았다. 또한 의치 구내염에 대한 연구도 효모의 채득과 배양이 비교적 용이한 상악의치에 편중되어져왔고 하악보다는 상악의치에서 의치 구내염의 발병빈도가 높다는 것이 그 동안의 연구 결과인데, 이는 상악 의치상과 조직사이의 음압으로 인해 타액 항체가 쉽게 효모와 접촉하지 못함으로써 효모의 호성장 조건을 만든다는 이론으로 해석될 수 있다. 그러나, 하악에서는 물리적 환경과 조건이 다르고 의치상 내면에 관여하게 되는 타액, 그리고 상악과는 해부학적인 위치의 차이로 인하여 각기 다른 타액 환경에 놓인다고 보아야 할 것이다.

타액의 채취를 위한 자극으로는 미각에 의한 자극

이외에 구강 점막과 치아에 대한 압력, 저작근의 활동 등으로의 자극⁴⁸⁾이 있으나 이는 감각성 흥분파를 일으켜 여러 종류의 자극이 동시에 일어나 압력의 기간과 크기, 성상에 따라 분비량이 다르다고 알려져⁴⁸⁾, 본 실험에서는 고삭 신경을 자극하여 악하선의 분비를 증가시키는 산 자극을 이용한 무조건 반사에 의한 타액의 분비를 유도하였다. 그리고 사용된 자극액에 관계없이 자극 타액은 2-3배까지 분비가 촉진되며⁴⁹⁾ 악하선과 설하선의 분비는 자극의 정도에 따라 전체 타액량의 30-60%에 다다르게 된다는 보고⁴⁹⁾를 참고하였다. B.J. Baum은 26-93세의 90명에서 구연산으로 자극시에도 분비율의 차이가 없다고 하였고 건강한 개체에서의 대 타액선의 기능은 증명시에도 유지된다고 하였다⁵⁰⁾. 그러나 무치악자에서는 유치악자와 다르다는 의견도 있다⁵¹⁾. 본 실험에 사용된 Modified Novel System은 악하선과 설하선 타액 채취에 있어서 안전하고 간편하며 신뢰할 만한 방법⁴⁹⁾으로 침해적이고 고통스러우며 특별한 기술이 필요한 기존의 cannulation⁵²⁾보다 환자와 술자에게 편리한 장치⁵³⁾라고 인정되며, 설하선의 배출량은 악하선의 5% 이내⁵³⁾이고 개구부위가 같기 때문에 본 방법으로 동시에 채집되는 것으로 인정되며 cannulation을 한다고 해도 같은 결과가 얻으리라고 생각된다⁵³⁾.

타액에 의한 피막형성이 미생물의 부착에 미치는 영향에 대한 연구로 Budtz-Jorgensen은 streptococci와 lactobacilli등의 레진에 대한 부착정도를 연구하여 보균자에서 치태 지수가 높게 나타났다는 결과와 의치 내면에 생긴 치태가 의치 구내염의 원인이라고 보고하였다⁵⁴⁾. 타액과 체액의 당단백질이 숙주세포에 대한 *Candida*의 부착을 방해하거나 증진시킨다³⁾고 알려져 있으며 acrylic 레진이나 고형체에 흡착된 단백질들이 *Candida*의 부착에 관여³⁾한다는 보고가 있고, 인공 물질에서 혈청이나 타액의 coating이 *Candida*의 집락화를 촉진하는 것으로 보여 타액 단백질과 이로 인한 피막형성은 치주염과 의치 구내염에서 중요한 고려사항이 된다²⁴⁾. 고형 물질에 대한 *Candida*의 부착 실험은 McCourtie 등^{20,22)}에 의해 연구되어 부착현상이 집락화 과정의 첫 단계이며 시간이 지남에 따라 biofilm, 그리고 결국에는 치태의 community로 이행하게 되는 것으로 보았다⁵⁵⁾. 인공 물질의 혈청 처리 후의 *Candida*의 부착능이 대조군의

4배, 타액은 2배가 증가한다²⁴⁾고 하였고 이는 본 실험의 결과와도 일치하였다(Fig. 11). 그리고 의치용 레진과 치아 뿐만이 아니라 의치 이장재에 있어서도 혈청과 타액 피막이 형성된 측에서 진균의 부착이 촉진되었다고³⁵⁾ 하였으며 hydroxylapatite에 대한 *Candida*의 부착능 시험에서 체액피막이 처리 안된 시편에 비하여 효모의 집락을 증진시킨다고 하였다²⁴⁾.

그러나, 선학들의 피막에 대한 연구들이 대부분 건강인, 혹은 표본의 한 환자로부터 무자극 혹은 자극 타액을 채취하거나, 상용의 표준 효모들을 사용하였고^{55,56)} hydroxylapatite나 polymethylmetacrylate, 혹은 의치 이장재에 대하여 실험을 하였으며 대부분의 연구 대상이 상악 의치이었기 때문에 타액에 대한 연구도 구개선 타액이나 전타액으로 한정지워졌다. 그래서 본 실험에서는 상악 의치와는 다른 환경에 노출된 하악 의치에 영향을 미치는 것으로 생각되는 각 개인의 악하선과 설하선 타액을 분석의 대상으로 하였고 효모 또한 개체 각 개인의 효모를 이용하여 피검자에 따른 상대적인 비교를 시행하였으며, 부착 실험 역시 의치재료로 흔히 쓰이는 열 중합 아크릴 수지(acrylic resin)를 이용하였다. 그 결과 각 피검자에서 분리된 효모의 피검자 타액에 대한 부착능은 I군에서 다른 군들과 구별되어 유의성있게 높게 나타났다(Fig. 11, Table 5). 그리고 타액의 부착능의 차이를 확인하기 위하여 가장 부착능이 우수했던 피검자 #2의 효모만을 이용하여 각 개체의 타액으로 처리된 레진 시편에 대한 부착능력을 비교한 결과(Table 4) 각 개체에 따라 특정 효모의 부착능력의 차이를 부여하는 성분이 타액내에 존재함을 확인할 수 있었다.

효모의 부착 실험 중 다른 연구에서는 대조군으로 증류수를 이용하였으나^{24,35)} 본 실험에서는 증류수와 효모 그리고 레진 시편의 세척에 사용된 완충 KCl 용액을 사용하여 두 대조군의 신뢰도를 확인하였으나 결과적으로 둘간의 차이를 발견할 수 없었다(Fig. 12). 효모의 부착능 실험은 현재 임상에서 의치의 재료로 쓰이는 열 중합 아크릴 수지 시편을 제작하여 각 개체의 타액 단백질로 3시간동안(37°C) 처리 후 일정량(1.26×10^7 cell/ml)의 *C. albicans*를 접종하여 부착시킨 후 화학적(NaOH), 기계적(초음파진동) 방법으로 시편에서 탈락시킨 효모의 양을 분광 광도계를 이용하여 측정하는 방법으로 시편에 부착되어있던

효모의 양으로 추정하였다.

효모의 부착능 차이를 나타낸 각 개체의 타액성분에 대한 분석은 Lowry 방법으로 타액 상층액내의 단백질량을 확인한 후 동량의 단백질을 취하여 SDS-PAGE와 immunoblot을 시행하였다. SDS 전기영동은 타액내 단백질의 조성에 있어서 정성적인 면보다는 정량적인 면의 설명이 가능한 방법으로⁵⁷⁾, 전기영동후의 PAS 염색⁵⁸⁻⁶¹⁾으로 점액 단백질의 조성 비교시 300kDa에 해당하는 고분자 물질인 mucin-type glycoprotein(MG1)이 group I에 해당하는 피검자 #1, #2, #4, #5, #6(Fig. 7)의 타액에서 다른 군에 비하여 많은 양이 검출되었고 이는 구개선의 단백질을 분석한 상악 의치 구내염의 연구 결과와 일치했다^{62,63)}. 특히 상악 의치에서는 타액내 당단백질들이 의치의 유지에 기여하는 것으로 해석되고 있다.

단백질의 분석을 위해 전기영동된 gel을 Coomassie brilliant blue 염색⁶⁴⁾하고 비교한 결과 group I에 해당하는 피검자 #2, #3, #4, #5 (Fig. 8)의 타액에서 83 kDa⁶⁵⁾과 75 kDa에 해당하는 염색대가 다른 군에 비하여 뚜렷하게 나타났다. 이 결과에 대한 정성적인 분석을 위해서 염색대의 분자량에 해당한다고 추정되는 단백질의 항체(anti-human IgA: α -chain, anti-human lactoferrin, anti-human secretory component:IgA)를 이용하여 immunoblot을 시행한 결과, Fig. 9와 Fig. 10에서 분자량 83 kDa에 해당하는 단백질은 lactoferrin으로 확인되고 75 kDa에 해당하는 단백질은 IgA로 확인되었는데 이들 모두 group I에서 group II보다 많은 양이 관찰되었다. 따라서 이들 단백질도 MG처럼 *C. albicans*의 집락에 일부 관여할 수 있는 것으로 생각된다.

IgA는 미생물체의 침입에 대하여 1차 방어 기능을 하는 모든 점막에서 나타나는 두드러진 immunoglobulin isotype으로서 IgA의 농도는 식사요소와 매일 매일의 정서 그리고 운동 등에 의해서 변화된다. 특히 고령자에서는 비자극 타액과 IgA의 분비속도가 현저히 적어지며 sIgA의 분비속도는 총단백질양과는 상관없이 없다는 보고가 있다^{66,67)}. 냉동과 해동이 IgA의 농도를 여러면으로 감소시키는 원인이 된다는 관점에서⁶⁸⁾ 본 실험에서 시행한 타액에 대한 효소 정지 처리와 냉동 후 해동시키는 방법은 원래 환자의 타액에 포함되어 있는 IgA양의 분석에 있어 실제보다 적게 나타났을 것으로 추정되고,

이는 보관 용기에의 aggregation때문인 것으로 보인다.

본 실험 결과, 의치용 아크릴 수지에 대한 mucin의 흡착이 *C. albicans*의 부착에 좋은 조건을 제공하며 이 밖에도 면역 글로불린도 효모 부착에 관여하는 것으로 생각된다. 면역 글로불린 중에도 *C. albicans*에 대한 항체가 형성되었는 지, 이에따라 효모의 부착이 방해될 수 있는지에 대해서는 구강내 *Candida*에 대한 억제인자가 있을 듯하다²⁴⁾는 보고와, IgA가 타액으로 흡착된 치아 표면에 미생물의 초기 점착을 방해한다는⁶⁹⁾ 연구 결과들로 보아 각 개인의 타액에 대한 효모의 면역 검사도 고려되어야 할 것으로 사료된다.

흡연으로 인하여 구강 점막이 *Candida*의 군락 형성에 용이한 조건을 형성한다는 추론에 대한 연구와 여성에서 *C. albicans*의 이환율이 높다는 보고¹⁰⁾가 있어왔고 효모의 산생성 능력과 연관지워 음식치아가 많을수록 효모의 발현 빈도가 높다는 보고가 있었다^{15,28,70,71)}. 또 다른 연구에서는 *C. albicans* 보균자가 치태 지수가 높은 것으로 보고하였고 취침시의 의치장착이 의치 구내염의 발현과 관련이 깊다는 보고가¹⁵⁾ 있으나 본 실험에서는 연구대상 개체수의 한계로 인하여 전신 병력과 의치장착 습관, 혈액형 등과 의치 구내염과의 연관성을 발견할 수는 없었다. 더욱이 피검자 중에 흡연자가 없었기 때문에 차후 충분한 개체수를 확보한 연구를 통하여 문진 항목과 전신 병력에서 유의성 있는 결과가 기대된다.

과학적인 방법을 이용하여 소실된 조직을 생체재료로 수복하고 구강액내 분자의 선택적인 흡수를 분석해야할 미래의 보철 연구²⁶⁾에서 조직 수복을 위한 생체재료 표면의 화학적 성상과 피막층, 그리고 구강내 미생물과 숙주의 반응 등에 대한 분석과 이해가 필요하게 되리라 생각되며 위와 같은 연구 결과들이 체계적으로 축적된다면 타액의 분비율과 조성은 정기적인 혈액검사와 함께 타액선의 진단과 구강건강을 포함한 전신질환의 진단과 예후에 유용한 지표로 쓰일 것이라 기대되고¹⁹⁾, 나아가 부분 무치악 환자의 의치 장착 과정에서의 효모량의 변화와 타액의 성분 변화에 대한 연구가 이루어져야하리라 생각된다.

V. 결 론

각 피검자의 악하선과 설하선 타액, 그리고 의치 구내염 환자의 의치 내면에서 분리한 효모를 이용하여 의치용 아크릴 수지에 대한 *C. albicans*의 부착 능력의 차이와 타액내 단백질과의 상호 관계를 비교 연구하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 하악 의치 구내염 환자에서의 이환측 의치 내면에 부착된 *C. albicans*의 양이 비이환측에 비하여 최소 3.6배 이상 많은 것을 확인하였다.
2. 악하선, 설하선의 타액내 당단백질(mucin, MG1)량이 다른 군에 비하여 I군(의치 구내염 환자)에서 많이 검출되었으며 각 피검자의 타액과 각 개체의 효모를 이용하여 레진 시편에 대한 부착능 실험을 시행한 결과, 당단백질량이 많았던 타액으로 처리된 실험 I군에서 *C. albicans*의 의치에 대한 부착 능력이 높게 나타났다.
3. 타액내 포함되어 있는 여러 단백질 중 IgA(α -chain)와 lactoferrin의 양이 다른 군에 비하여 I군에서 많이 검출되었다.

이상의 결론으로부터 각 개인이 갖고 있는 타액내 특정 단백질의 성분과 양이 *C. albicans*의 부착 능력에 영향을 미치는 것으로 생각되었다.

참 고 문 헌

1. Budtz-Jorgensen E and Bertram U : Denture stomatitis I. The etiology in relation to trauma and infection. Acta Odont Scand, 1970, 28:71-76.
2. Charles, D., Palenik, M.S. and Chris, H.M. : In vitro testing of three denture-cleaning systems. J Prosthet Dent, 51:751-754, 1984.
3. 이철규, 김창희 : 캔디다 알비칸스의 구강내 빈도 및 분포도에 관한 연구. 대한치과보철학회지, 24:91-103, 1986.
4. Masella, R.P., Dalan, C.T. and Laney, W.R. : The prevention of the growth of *Candida* in elastic 390 soft liner for denture. J Prosthet Dent, 33:250, 1975.
5. Budtz-Jorgensen, E. : Evaluation of a dehydrated test strip, Microstics[®]-*Candida*, for detection of *Candida*-induced denture stomatitis. Scand. J Dent Res, 84:229-233, 1976.
6. Budtz-Jorgensen, E. : Clinical aspects of *Candida* infection in denture wearers. J Am Dent Assoc, 96:474-479, 1978.
7. Renner, R.P., Andors, L., Lee, M. and McNamara, T.F. : The role of *C. albicans* in denture stomatitis. Oral Surg., 47:323-328, 1979.
8. Arendorf, T.M. and Walker, D.M. : Oral *Candida* populations in health and diseases. Br Dent J, 147:267-272, 1979.
9. Rossotto, S.B. : The role of *C. albicans* in the pathogenesis of angular cheilosis. J Prosthet Dent, 44:243-246, 1980.
10. Davenport, T.C. : The oral distribution of *Candida* in denture stomatitis. Br Dent J, 129:151-156, 1970.
11. Samaranayake, L.P. and MacFarlane, T.W. : A retrospective study of patients with recurrent chronic atrophic candidosis. Oral Surg., 52:150-153, 1981.
12. Nyquist, G. : The influence of denture hygiene and the bacterial flora on the condition of the oral mucosa in full denture cases. Acta Odont Scand, 10:24-60, 1952.
13. Fisher, A.A. : Allergic sensitization of the skin and oral mucosa to acrylic resin denture materials. J Prosthet Dent, 6:593-602, 1956.
14. William, D.L., MiGoska, R.J.M. : The etiology of mucosal inflammation associated with dentures. J Prosthet Dent, 18:515, 1967.
15. Nikawa, H., Yamamoto, T., Hamada, T., Rahardjo, T.B. and Murata, H. : Commercial denture cleaners - cleansing efficacy against *C. albicans* biofilm and compatibility with soft denture lining materials. Int J Prosthodontics, 8:434-444, 1995.
16. Campbell, R.L. : Relief chambers in complete dentures. J Prosthet Dent, 11:230-236,

- 1961.
17. Robinson, H.B.G. : Diagnosis of lesions associated with dentures. *J Prosthet Dent*, 7:383-340,1957.
 18. Leupold, R.J., Flinton, R.J. Pfeifer, D.L. : Comparison of vertical movement occurring during loading of distal-extension removable partial denture bases made by three impression techniques. *J Prosthet Dent*, 68:290-293, 1992.
 19. Edgerton, M., Tabak, L.A. and Levine, M.J. : Saliva: A significant factor in removable prosthodontic treatment. *J Prosthet Dent*, 57:57-66, 1987.
 20. McCourtie, J. and Douglas, L.J. : Relationship between cell surface composition of *Candida albicans* and adherence to acrylic after growth on different carbon sources. *Infect Immun*, 32(3):1234-41, 1981,
 21. Vasilas, A., Molina, L., Hoffman, M. and Haidaris, C.G. : The influence of morphological variation on *C. albicans* adhesion to denture acrylic in vitro. *Archs oral Biol*, 37:613-622, 1992.
 22. Edgerton, M., Scannapieco, F.A., Reddy, M.S. and Levine, M.J. : Human mandibular-sublingual saliva promotes adhesion of *C. albicans* to polymethylmethacrylate. *Infect Immun*, 61:2644-2652, 1993.
 23. Joshi, K.R., Bremner, M.B., Gavin, J.B., Herdson, P.B. and Parr, N.D. : The formation of germ tube by *C. albicans* in sheep serum and trypticase soya broth. *A J C P*, 60:839-842, 1973.
 24. Nikawa, H., Hamada, T., Yamashiro, H., Murata, H. and Subiwahjudi, A. : The effect of saliva or serum on *Streptococcus mutans* and *C. albicans* colonization of hydroxylapatite beads. *J Dent* , 26:31-37, 1998.
 25. Vieira, E.G. and Henriques, S.B. : Comparison of the Lowry and Coomassie Blue methods for the determination of protein concentration. *Braz L Med Biol Res*, 25:583-591, 1992.
 26. Nikawa, G., Yamamoto, T., Hamada, T., Raharjo, M.B. and Murata. H. : Antifungal effect of zeolite-incorporated tissue conditioner against *C. albicans* growth and/or acid production. *J Oral Rehabil*, 24:350-357, 1997.
 27. Olsen I. Denture stomatitis. Occurrence and distribution of fungi. *Acta Odontol Scand*, 32: 329-33, 1974.
 28. Bergendla T, Holmberg K, Nord C-E. Yeast colonization in oral cavity and feces in patients with denture stomatitis. *Acta Odontol. Scand*, 37: 37-45, 1979.
 29. Forche MH, Slabbert JCG, Coogan MM. *Candidal* antibodies in patients undergoing treatment for denture stomatitis. *J Prosthet Dent*, 57:587-91, 1987.
 30. Koopmans, A.S.F., Kippuw, D. and de Graaff, J. : Bacterial involvement in denture-induced stomatitis. *J Dent Res*, 67:1246-1250, 1998.
 31. Rodriguez-Archilla, A., Urquia, M., Cutando, A. and Asencio, R. : Denture stomatitis: Quantification of interleukin-2 production by mononuclear blood cells cultured with *C. albicans*. *J Prosthet Dent*, 75:426-431, 1996.
 32. Edgerton, M. and Levin, M.T. : Characterization of acquired denture pellicle from healthy and stomatitis patients. *J Prosthet Dent*, 68:683-691, 1992.
 33. McCourtie, J., MacFarlane, T.W. and Samaranayake, L.P. : Effect of chlorhexidine gluconate on the adherence of *Candida* species to denture acrylic. *J Med Microbiol*, 20:97-104, 1985.
 34. Nikawa, H., Kotani, H., Sadamori, S, and Hamada, T. : Denture stomatitis and ABO blood types. *J Prosthet Dent*, 66:391-394, 1991.
 35. Nikawa, H., Hamada, T., Yamamoto, T. and Kumagai, H. : Effects of salivary or serum pellicles on the *Candida albicans* growth

- and biofilm formation on soft lining materials. *J. Oral Rehabil.*, 24:594-604, 1997.
36. Odds, F.C. and Evans, E.G. : Routine use of modified Sabouraud's dextrose broth in the germ tube test for *C. albicans*. *Medical Laboratory Technology*, 32:23-26, 1975.
 37. Radford, D.R. and Radford, J.R. : A sem study of denture plaque and oral mucosa of denture-related stomatitis. *J Dent*, 21:87-93, 1993.
 38. Santarpia III, R.P., Brant, K.L., Brasseur, M.M., Hong, A.L. and Pollock, J.J. : A comparison of the inhibition of blastospore viability and germ-tube development in *C. albicans* by histidine peptides and ketoconazole. *Archs Oral Biol*, 33:567-573, 1988.
 39. Richardson, M.D. and Smith, H. : Production of germ tubes by virulent strains of *C. albicans*. *J Infect Dis*, 144:565-569, 1981.
 40. Goldschmidt, M.C., Fung, D.Y., Grant, R., White, J. and Brown, T. : New aniline blue dye medium for rapid identification and isolation of *C. albicans*. *J Clin Microbiol*, 29:1095-1099, 1991.
 41. Skoglund, A., Sunzel, . and Lerner, U.H. : Comparison of three test methods used for the diagnosis of candidiasis. *Scand J Dent Res*, 102:295-298, 1994.
 42. Axell, T., Simonsson, T., Birkhed, D., Rosenberg, J. and Edwardsson, S. : Evaluation of simplified diagnostic aids (Oricult-N) for detection of oral candidoses. *Scand J Dent Res*, 93:52-55, 1985.
 43. Cardash, H.S. and Rosenberg, M. : An innovative method of monitoring denture denture hygiene. *J Prosthet Dent*, 63:661-664, 1990.
 44. Ponton J., Bikandi J., Miraguess M.D., Arilla M.C., Elosegui R., Quindos G., Fiscaro P., Conti S. and Polonelli L. : Reactivity of *C. albicans* germ tube with salivary IgA. *J Dent Res*, 75:1979-1985, 1996.
 45. Gow, N.A.R. and Gooday, G.W. : Vacuolation, branch production and growth of germ tubes of *C. albicans*. *Journal of General Microbiology*, 128:2195-2198, 1982.
 46. Mattia, E., Carruba, G., Angiolella, L. and Cassone, A. : Induction of germ tube formation by N-Acetyl-D-Glucosamine in *Candida albicans*; uptake of inducer and germinative response. *J Bacteriol*, 152:555-562, 1982.
 47. Nikawa, H., Iwanaga, H. and Hamada, T. : An in vitro evaluation of simplified quantitative diagnostic aids for detection of *C. albicans*. : *J Prosthet Dent*, 68:629-633.
 48. 이종훈, 김중수: 구강 생리학. 129-136. 군자 출판사, 서울, 1994.
 49. Wolff, A., Begleiter, A. and Moskoña, D. : A Novel system of human, submandibular/sublingual saliva collection. *J Dent Res*, 76:1782-1786, 1997.
 50. Baum, B.J. : Evaluation of stimulated parotid saliva flow rate in different age groups. *J Dent Res*, 60:1292-6, 1981.
 51. Ben-Aryeh, H., Miron, D., Szargel, R. and Gutman, D. : Whole-saliva secretion rates in old and young healthy subjects. *J Dent Res*, 63:1147-8, 1984.
 52. Martin, B.H. : Instrumentation for salivary duct cannulation. *Radiology*, 115:213, 1975.
 53. Fox, P.C., van der Ven, P.F., Sonies, B.C., Weiffenbach, J.M. and Baum, B.J. : Xerostomia; Evaluation of a symptom with increasing significance. *J Am Dent Assoc*, 110:519-525, 1985.
 54. Budtz-Jorgensen, E. : Effects of denture-wearing habits on periodontal health of abutment teeth in patients with overdentures. *J Clin Periodontol*, 21: 265-269, 1994.
 55. Ansehn, S. and Nilsson, L. : Direct membrane-damaging effect of ketoconazole and tioconazole on *C. albicans* demonstrated by bioluminescent assay of ATP. *Antimicrob Agents Chemother*, 26:22-25, 1984.
 56. Segal, E., Lehrman, O. and Dayan, D. :

- Adherence in vitro of various *Candida* species to acrylic surface. *Oral Surg*, 66:670-673, 1988.
57. Lloyd, E., King, Jr. and Morrison, M. : The visualization of human erythrocyte membrane proteins and glycoproteins in SDS polyacrylamide gels employing a single staining procedure. *Anal Biochem*, 71:222-230, 1976.
 58. Kapitany, R.A. and Zebrowski, E.J. : A high resolution PAS stain for polyacrylamide gel electrophoresis. *Anal Biochem*, 56:361-369, 1973.
 59. Kaschnitz, R., Peterlik, M. and Weiss, H. : Glycoprotein staining following electrophoresis on acrylamide gels. *Anal Biochem*, 148-152, 1969.
 61. Wabinga H.R. : Mucin secretion by gastric carcinoma cells: Pas alcian blue stain study. *East Afr Med J*, 73(suppl):19-20, 1996.
 62. Ikemoto, S., Minaguchi, K., Yomita, K. and Suzuki, K. : A variant protein in human parotid saliva detected by SDS polyacrylamide gel electrophoresis and its inheritance. *Ann Hum Genet Lond*, 43:11-14, 1979.
 63. Shiba, A., Yoshida, J., Nakao, M., Sano, K., Cho, H. and Hayashi, T. : Electrophoretic analysis of the protein in palatine saliva. *J Prosthet Dent*, 43:385-391, 1980.
 64. Saoji, A.M., Kulkarni, M. and Naghi, T. Coomassie brilliant blue R-250 as a highly sensitive pre-stain for immediate visualization of human serum proteins on polyacrylamide gel disc electrophoresis and raising monospecific antibodies. *Indian J Pathol Microbiol*, 32:286-290, 1989.
 65. Querinjean, P., Mansson, P.L. and Heremans, J.F. : Molecular weight, single-chain structure and amino acid composition of human lactoferrin. *Eur J Biochem*, 20:420-425, 1971.
 66. Miletic I.D., Schiffman S.S., Miletic V.D. and Sattely-Miller E.A. : Salivary IgA secretion rate in young and elderly persons. *Physiol Behav*, 60:243-248, 1996.
 67. Seyfarth M., Lange K.P. and Frohlich S. : Determination of S-IgA and free secretory component in sliwer. *Allerg Immunol*, 32:41-46, 1986.
 68. Ben-Aryeh H., Naon, H., Szargel, G., Horowitz, G. Gutman, D. : The concentration of salivary IgA in whole and parotid saliva and the effect of stimulation. *Int J Oral Maxillofac Surg*, 15:81-84, 1986.
 69. Hsjishengallis G., Nikolova E. and Russell M.W. : Inhibition of *Streptococcus mutans* adherence to saliva-coated hydroxyapatite by human secretory immunoglobuline A(s-IgA)antibodies to cell surface protein antigen I/II : reversal by IgA1 protease cleavage. *Infect Immun*, 60:5057-5064, 1992.
 70. Samaranayake, L.P. and MacFarlane, T.W. : An in-vitro study of the adherence of *C. albicans* to acrylic surfaces. *Archs Oral Biol*, 25:603-607, 1980.
 71. Samaranayake, L.P. and MacFarlane, T.W. : Factors affecting the in-vitro adherence of *C. albicans* to acrylic surfaces. *Archs Oral Biol*, 25:611-615 , 1980.

ABSTRACT

ADHESION OF *CANDIDA ALBICANS* ISOLATES TO ACRYLIC RESIN IN RELATION TO SALIVARY GLYCOPROTEINS IN DENTURE STOMATITIS PATIENTS

Jung-Hwan Oh, Boo-Byung Choi, Dae-Gyun Choi, Yi-Hyung Woo, Sung-Bok Lee, Kung-Rock Kwon

Department of Prosthodontics, College of Dentistry, Kyung Hee University

Adherence of *Candida albicans* (*C. albicans*) to the surface of a denture is believed to be an initial and essential step in the formation of denture-induced stomatitis. Previous studies have provided enormous information on the relationship between composition of palatine gland/parotid saliva and upper denture stomatitis. Relatively little information is available on the correlation between lower denture stomatitis and sublingual-submandibular (SLSM) saliva. The plaque samples were collected from the two sites (100mm²) on the inner surface of lower partial denture corresponding to the stomatitis and healthy region of the lower partial dentures of 12 denture stomatitis patients and 6 normal persons who wore lower partial dentures. The samples were plated to isolate *C. albicans* on a selective Saboraud's dextrose agar plate and the isolates were identified by germ tube test and gram staining. The subjects were divided into group I (stomatitis with *C. albicans*), group II (lesion without *C. albicans*), group III (no lesion but *C. albicans*), and group IV (normal and healthy denture wearer). Individual SLSM saliva (20µg of protein) was analyzed by SDS-PAGE (SDS-polyacrylamide gel electrophoresis) with Coomassie brilliant blue and PAS (Periodic Acid Schiff) staining. The salivary proteins separated in the polyacrylamide gels were subjected to immunoblot analysis using anti-lactoferrin, anti-sIgA, and anti-secretory component of sIgA. In this study using custom made acrylic denture resin beads (5mm in diameter) coated with stimulated individual SLSM saliva, the binding ability of individual *C. albicans* strains to the beads was observed. Levels of *C. albicans* adhered to the acrylic resin beads were determined by measuring the optical density of the bound *C. albicans* to the beads at 580nm.

The results showed that a higher number of *C. albicans* was observed in the lesion site than healthy site. The saliva of group I contained more high molecular weight glycoprotein (mucin, MG1) as compared to group II, III, and IV. And lactoferrin and sIgA affected to the binding ability of *C. albicans* to acrylic resin beads. Binding ability of individual *C. albicans* to the acrylic resin coated with respective individual saliva was found to be greater in group I than the other 3 groups. And when bound cells of *C. albicans* isolated from individual subject #2 to the saliva coated beads were used, binding ability of subject #2 saliva coated beads was found to be greater than the other subjects. These results suggested that denture induced stomatitis is related to individual patient's salivary protein composition, especially MG-1. Future studies will be directed toward saliva examination of patients who have general disease and analysis of pellicles formed on prosthesis with respect to oral disease.