

Lipomyces starkeyi KSM 22 glucanhydrolase의 추가가 구강세정액의 치태 억제 효과에 미치는 영향

서은주 · 정현주 · 김옥수 · 김영준 · 김상혁¹

전남대학교 치과대학 치주과학교실 및 치의학연구소, 주식회사 라이프엔자¹

I. 서론

치주질환의 주요한 원인이 되는 치태의 간질에는 다당류인 dextran, levan, mutan 등이 주로 함유되어 있는데, 그것은 세균의 영양원이나 치태 내 세균의 유지와 고정에 기여하고 있다. 그러므로 치태의 형성 억제 및 제거는 치주 질환의 예방 및 치유를 위해 매우 중요하다. 적절한 치태 조절을 하기 위한 방법으로는 기계적인 것과 화학적인 것이 있다. 기계적인 방법으로 주로 칫솔질이 사용되는데 치은연상 치태를 완전히 제거할 경우 치은의 건강은 한 번의 칫솔질로도 24-48시간 동안 유지되지만, 칫솔질만으로는 완전한 치태의 제거가 용이하지 않으므로 보다 안전하고 효과적인 항치태 기능을 가진 세정제의 보조적 사용이 필요하다.

항치태 기능을 가진 물질은 chlorhexidine, 금속 이온, 항생제, phenol 화합물, 약초 물질, 효소, essential oil, 불소, quaternary ammonium compound 등이 있다. 이 중 biguanide 계통의 chlorhexidine digluconate는 현재 사용되는 제재 중 가장 효과적인 항치태제이지만, 장기간 사용하였을 때 치아 및 혀의 변색, 미각이상, 점막자극, 과민증 등이 유발된다¹⁻⁷⁾.

금속 이온은 과량 사용시 독성이 우려되며 구강 내 환경이 알칼리성일 때에는 항균활성이 없는 불용성의 수산화금속으로 전환된다. 불소는 과다흡수시 인체 내 부작용의 가능성이 있어 논란이 있으며 항생제는 저항 균주의 발생, *Candida albicans* 감염의 가능성, 약물에 대한 과민반응 발생 등의 문제 때문에 치태 조절의 목적으로 장기간 사용하기에는 부적절하다³⁾. Quaternary ammonium compound는 chlorhexidine과 항치태 효과를 비교해 볼 때 별다른 이점이 없으며 장기간 사용시 부작용이 더 심한 것으로 보인다³⁾. 따라서 우수한 항치태 기능을 가지면서 부작용은 없는 새로운 구강 세정제의 개발이 요구된다고 하겠다.

치태 내 세균 중 *Streptococcus mutans* 등의 그람 양성균은 세포의 다당류를 생성하는데 주로 수용성 $\alpha(1-6)$ linked glucan인 dextran과 불용성 $\alpha(1-3)$ linked glucan인 mutan으로 구성되어 있어서 치태세균의 부착과 증식에 기여한다. Dextranase는 이들 치태간 기질의 분해에 기여하는 효소로서 치태내의 dextran을 분해하고⁸⁾, mutan의 합성을 방해하며⁹⁾, 치면에 연쇄상 구균의 부착을 억제하며^{9, 10)}, 치태 형성과 우식 발생을 저하시킨다고 보고되고 있다^{11, 12)}.

*교신저자 : 정현주, 광주광역시 동구 학동 5번지, 전남대학교 치과대학 치주과학교실, 우편번호 : 501-757

그러나 다른 연구¹³⁾에서는 그 효과가 유의하지 않는 등 그 효능이 일관되지 않으므로 현재 임상에서는 사용하지 않고 있다. Kim 등¹⁴⁾ 과 Ryu 등¹⁵⁾은 *in vitro* 실험에서 *Lipomyces starkeyi* KSM 22에서 얻은 glucanhydrolase가 dextranase 활성 외에 amylase와 mutanase의 효능을 가지고 있기 때문에 *Penicillium*에서 추출된 dextranase보다 구강에서 높은 항치태 작용을 나타낼 수 있다고 그 근거를 제시하였다. 그리고 손 등¹⁶⁾은 3주 간의 실험적 치은염 모델 실험에서 glucanhydrolase 사용에 의한 치태 축적 억제 효과가 chlorhexidine 사용군과 인산 완충 용액 사용군에 비해 크고, 치은염 지수 및 치은염 심도 지수도 glucanhydrolase 사용군이 다른 군에 비해 유의하게 낮아 glucanhydrolase 양치에 의한 치은 염증 억제 효과가 가장 크다는 것을 보고하였다. 또한 송 등¹⁷⁾은 6개월간 칫솔질과 병행하여 구강세정제 사용시 glucanhydrolase 용액이 chlorhexidine 용액과 비교될 만한 우수한 치태 억제 및 치은염 예방 효과가 있음을 보고하였다.

그러나 glucanhydrolase를 시판 중인 구강세정제에 추가하였을 때 얻을 수 있는 항치태 효과에 대한 연구가 없기에, 본 연구에서는 기능적으로 우수한 구강세정제를 개발하기 위하여 시판되는 구강세정제에 *Lipomyces starkeyi* KSM 22 glucanhydrolase를 추가할 경우 얼마나 부가적인 치태 축적 억제 효과를 가지는지 평가하고자 하였다.

II. 실험 대상 및 방법

1. 실험 대상 및 재료

본 실험에 종료시까지 참여하기로 동의서에 서명한 전남대학교 치과대학 학생 중에서 검사할 수 있는 치아를 25개 이상 보유하고 있는 23~32세(평균 24.9세)의 치주적으로 건강한 15명을 대상으로 연구를 시행하였다. 이때 피험자는 교정 장치나 가철성 국소의치, 구강 내 병소, 치주질환이 없고 연구 시작 전 2주 이내에 항생제를 투여한 적이 없으며 약제에 대한 과민반응이나 알러지 병력이 없는 자를 선정하

였다.

사용된 구강세정액은 기본세정액으로 0.01% benzethonium chloride 용액(케어가글®, 한미약품), 1 unit/ml *Lipomyces starkeyi* KSM 22 glucanhydrolase 함유 세정액(1 단위 효소세정액), 2 unit/ml *Lipomyces starkeyi* KSM 22 glucanhydrolase 함유 세정액(2 단위 효소세정액)의 3종이었다. *Lipomyces starkeyi* KSM 22 glucanhydrolase 동결 건조 분말은 전남대 공과대학과 (주) 라이프엔자의 연구개발팀으로부터 제공받았다. 기본세정액 선정을 위하여 시판되고 있는 구강세정액내 효소활성 실험 결과, glucanhydrolase 효소 활성을 90% 이상 유지시킨 케어가글®을 선택하였다. 1 unit이란 효소 기질로서 2% (w/v) dextran이나 수용성 전분(soluble starch)과 반응시 1분에 1 μ mol의 isomaltose나 maltose를 유리시킬 수 있는 효소의 양이다.

2. 실험 방법

구강세정제의 치태 형성 억제 능력을 평가하기 위해 1983년 Addy 등¹⁸⁾이 기술한 4일간의 치태 재생장 모델(4-day plaque regrowth model)을 사용하였다.

실험 시작 1~2주 전에 예비 검사를 시행하여 치태지수, 치은염 지수, 치주낭 깊이를 측정하였다. 각 실험 기간의 실험 1일째 오전 피험자들은 치면세마를 시행받고 이후 4일간 구강 위생 술식을 중단하고 각각 할당된 세정액을 20 ml씩 1일 2회, 아침 식사 후와 저녁에 양치하도록 하였다. 5일째 오전에 한 명의 검사자가 임상검사를 시행한 후 치면세마를 시행하였고, 이후 다음 실험 기간까지 정상적인 구강 위생 관리를 재개하도록 하였다. 3 종의 구강세정액에 대해 실험이 3회 반복되었으며 각 실험 기간 간의 wash-out 기간은 9일로 하였다. 피험자의 협조도는 각 실험기간 종료 후 용기에 남아있는 구강세정제의 양으로 평가하였다.

3. 평가

1) 치태 축적도

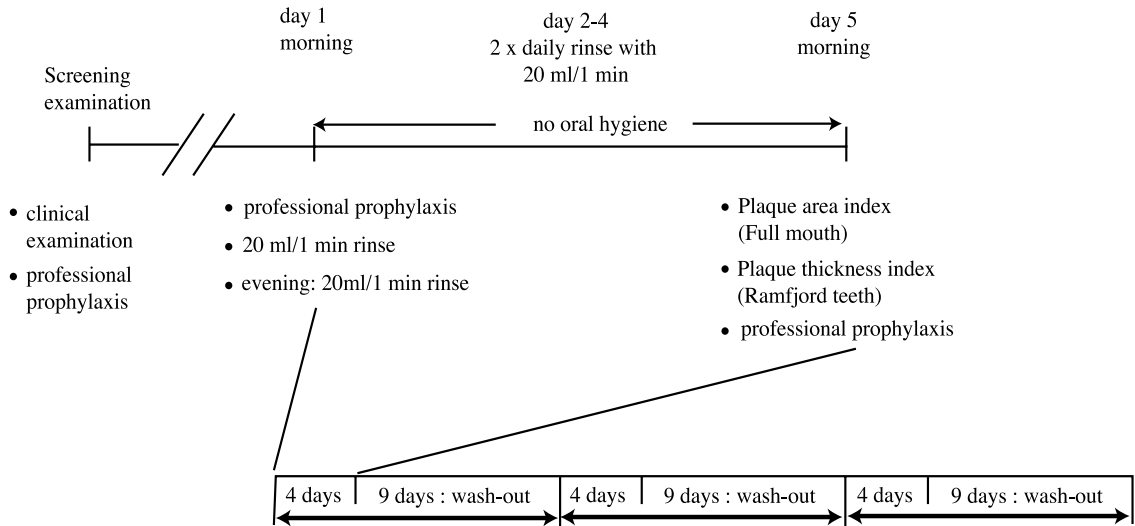


Figure 1. Outline of the clinical trial.

각 실험기간 5일째에 축적된 치태 면적과 두께를 평가하였다. 제3대구치나 치경부 수복물이 있는 경우를 제외한 모든 치아의 치아당 6부위(순면, 원심순면, 근심순면, 설면, 원심설면, 근심설면)에서 각 치아 순설면을 15초간 적색착색제(Erythrosin®, Sultan, Lorvic USA)로 착색 후 Turesky 변형 Quigley-Hein 치태 지수(1970)¹⁹⁾를 사용하여 치은연상 치태의 축적면적을 점수화하였다.

그리고 축적된 치은연상치태의 두께는 Ramfjord teeth^{20, 21)} (상악우측 제 1대구치, 상악 좌측 중절치, 상악 좌측 제 1소구치, 하악 좌측 제 1대구치, 하악 우측 중절치, 하악 우측 제 1소구치)의 치아당 6부위(순면, 원심순면, 근심순면, 설면, 원심설면, 근심설면)에서 Silness와 Loe의 치태 지수(1964)²²⁾를 사용하여 점수화하였다. 각 피험자당 전체 구강점수는 검사된 치면 점수의 평균치로 구하였다.

2) 치태 심도 지수

치태 심도지수(Plaque severity index)²³⁾로서 면적 심도지수는 구강내 Turesky 변형 Quigley-Hein 치태 지수가 3~5인 치면의 비율, 두께 심도지수로 Silness와 Loe 치태 지수가 2~3인 치면의 비율을 산출하였다.

3) 연조직 부작용에 대한 평가

모든 피험자에 대하여 각 실험기간의 5일째에 구강 내 연조직 및 경조직 상태를 검사하여 궤양, 혀의 침착물, 상피탈락, 혀나 점막의 작열감, 미각이상과 같은 세정제의 부작용이나 이상 작용이 있었는지를 점검하였다.

3. 통계처리

검사의 신뢰성을 위해 실험 개시 전에 실험자 중 5명에서 착색제 염색 후 15분 간격으로 Turesky 변형 Quigley-Hein 치태 지수를 검사하여 검사자 내의 상관 계수를 계산하였고 그 값은 0.882였다. 치태 지수를 피험자 단위로 산출하여, 세정액 사용군간의 군간 비교에 Friedman 검정과 Wilcoxon 부호순위 검정¹⁸⁾을 사용하였고, 치태 심도 지수는 피험자 단위로 산출하여 ANOVA로 군간 비교를 하였으며 $p < 0.05$ 수준에서 차이에 대한 통계학적 유의성을 검정하였다.

III. 결과

1. 치태 축적도의 변화

Table 1. Plaque area by Turesky modified Quigley-Hein plaque index following the use of the control mouthrinse, 1 unit and 2 unit glucanhydrolase-containing mouthrinse

Mouthrinse	n	median	Plaque area index	
			25th~75th percentile	mean±SD
Control	15	2.92	2.80~3.17	3.04±0.289
1 unit	15	2.54 [†]	2.35~2.75	2.54±0.263
2 unit	15	2.46 [†]	2.37~2.79	2.56±0.337

[†] Significantly different from the control at $p < 0.001$.

n : number of subjects

Control : 0.01% benzethonium chloride mouthrinse (Care Gargle sol'n[®])

1 unit : 1 unit/ml glucanhydrolase-containing mouthrinse

2 unit : 2 unit/ml glucanhydrolase-containing mouthrinse

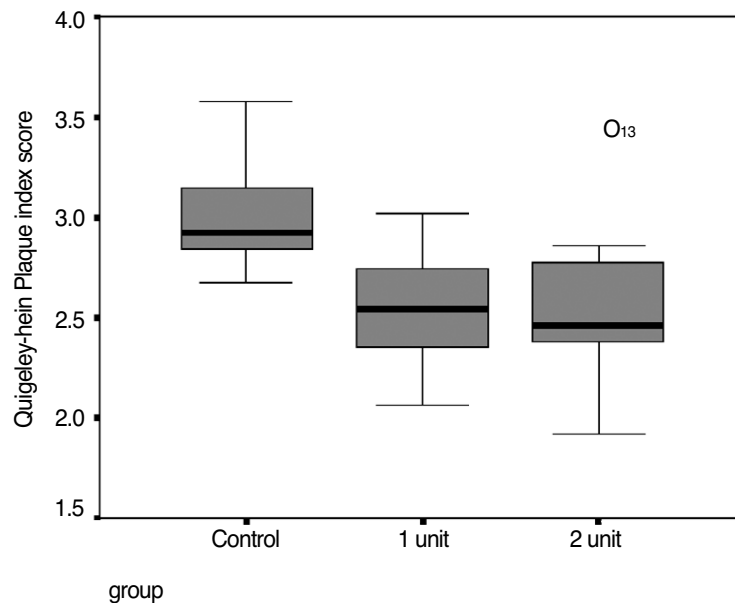


Figure 2. Plaque area by Turesky modified Quigley-Hein plaque index at the 5th day following the use of the control mouthrinse (0.01% benzethonium chloride mouthrinse), 1 unit and 2 unit glucanhydrolase- containing mouthrinse.

1) 축적치태의 면적 평가

치태 축적 면적을 평가하는 Turesky 변형 Quigley-Hein 치태 지수에 대한 결과는 Table 1과 Figure 2에 나타내었다. 치태 면적의 중앙값은 기본 세정액에서 2.92으로, 각각 2.54와 2.46으로 나타난 1 단위와 2 단위 효소 세정액에 비해 유의하게 낮게 나타났고($p < 0.001$), 효소세정액 농도에 따른 차이는 보이지 않았다.

2) 축적치태의 두께 평가

축적치태의 두께를 평가하는 Silness와 Löe 치태 지수에 대한 결과는 Table 2와 Figure 3에 나타내었다. 기본세정액이 2.33으로 2.00인 1 단위 효소세정액과 1.94인 2단위 효소세정액보다 통계적으로 유의성 있게 높았고($p < 0.001$), 효소세정액 각 군 간에는 통계적인 차이를 보이지 않았다.

Table 2. Plaque thickness by Silness and Loe plaque index following the use of the control mouthrinse, 1 unit and 2 unit glucanhydrolase-containing mouthrinse

Mouthrinse	n	median	Plaque thickness	
			25th~75th percentile	mean±SD
Control	15	2,33	2,17~2,44	2,32±0,204
1 unit	15	2,00 [†]	1,89~2,00	1,96±0,098
2 unit	15	1,94 [†]	1,92~2,00	1,91±0,169

[†]Significantly different from the control at $p < 0,001$.

n : number of subjects

Control : 0,01% benzethonium chloride mouthrinse (Care Gargle sol'n[®])

1 unit : 1 unit/ml glucanhydrolase-containing mouthrinse

2 unit : 2 unit/ml glucanhydrolase-containing mouthrinse

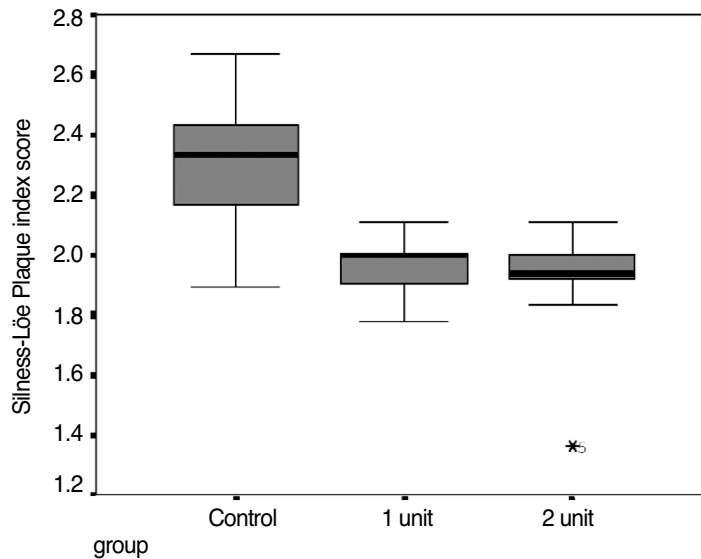


Figure 3. Plaque thickness by Silness and Loe plaque index at the 5th day following the use of the control mouthrinse(0.01% benzethonium chloride mouthrinse), 1 unit and 2 unit glucanhydrolase-containing mouthrinse.

2. 치태 침도 지수

Turesky 변형 Quigley-Hein 치태 지수에 의한 치태면적 침도지수는 Figure 4에 나타내었다. 기본세정액 사용시 치태면적 침도지수는 0.76으로 각각 0.56과 0.58인 1 단위와 2 단위 효소세정액에 비해 통계적으로 유의하게 높게 나타났고($p < 0.001$), 효소세정액 사용 후 각 단위 간에 통계적인 차이는 나타나지 않았다.

Silness와 Loe 치태 지수에 의한 치태두께 침도지수는 Figure 5에 나타내었다. 1 단위와 2 단위 효소세

정액 사용시 치태두께 침도지수는 각각 0.94와 0.93, 기본세정액 사용시는 0.97으로 통계적인 차이를 보이지 않았으나 효소세정액이 기본세정액보다는 낮은 경향을 보였다($p=0.058\sim0.079$).

3. 치면 착색 및 구강내 부작용

세 군 모두에서 궤양, 혀의 침착물, 상피탈락, 혀나 점막의 작열감, 미각이상과 같은 세정제의 부작용이나 이상 작용은 나타나지 않았다.

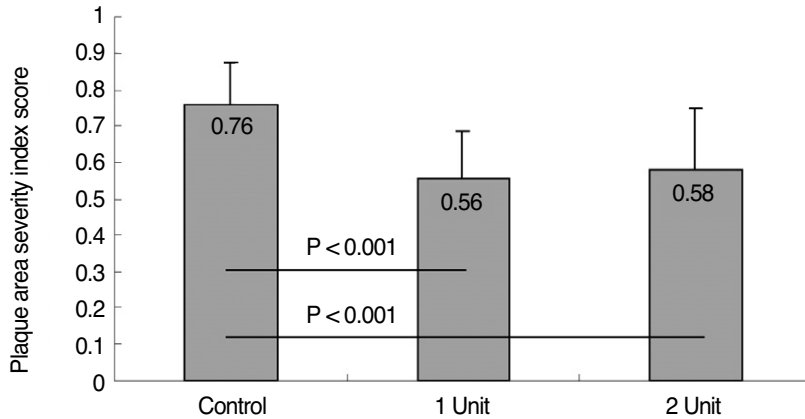


Figure 4. Plaque area severity index score by Turesky-Quigley-Hein plaque index following the use of the control mouthrinse (0.01% benzethonium chloride mouthrinse), 1 unit and 2 unit glucanhydrolase-containing mouthrinse (15 participants are included in each group).

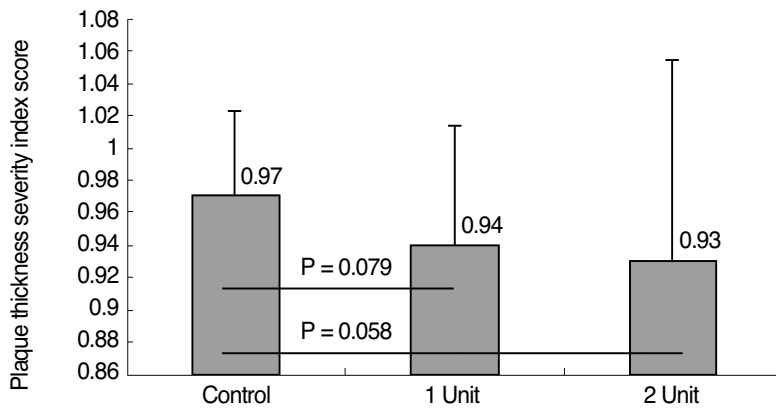


Figure 5. Plaque thickness severity index score by Silness and L  e plaque index following the use of the control mouthrinse (0.01% benzethonium chloride mouthrinse), 1-unit and 2-unit glucanhydrolase-containing mouthrinse (15 participants are included in each group).

IV. 고찰

이번 연구에서는 기능적으로 우수한 구강세정제를 개발하기 위한 전단계로서 시판되는 구강세정제에 *Lipomyces starkeyi* KSM 22 glucanhydrolase를 추가할 경우 얼마나 부가적인 치태 축적 억제 효과를 가지는지 평가하고자 하였다.

이번 실험에서는 기본세정액으로 삼은 시판 중인 구강세정제(0.01% benzethonium chloride 수용액, 케어가글®)에 *Lipomyces starkeyi* KSM 22 glucanhydrolase를 부가적으로 추가하였을 때 나타나는 치태 형성 억제효과를 관찰하였다. 기본 세정액으로서 Kim 등(1999)¹⁴⁾이 시판 중인 여러 구강세정제와 구강세정제 성분의 *Lipomyces starkeyi* KSM 22 glucan-

hydrolase의 안정성에 대한효과를 관찰한 결과로부터 효소 안정성이 6개월간 93%이상 유지된 구강세정제를 선정하여 본 실험에 사용하였다. 그리고 이 실험에서 사용한 4일간의 치태 재생장 모델은 1983년 Addy 등¹⁸⁾이 사용한 이후 Binney 등²⁴⁾, Rosin 등²⁵⁾도 사용하여 구강세정액의 치태형성 억제작용을 평가하는데 유용한 방법이라고 입증되었다. 치태형성을 평가를 위하여 치태축적면적을 측정하는 Turesky 변형 Quigley-Hein 치태 지수와 치태두께를 측정하는 Silness와 Löe 치태 지수를 종합하여 3차원으로 평가하고자 하였다.

임상실험 결과 구강세정액을 사용한 4일 후 Turesky 변형 Quigley-Hein 치태 지수의 중앙값은 기본세정액에서 2.92로 1 단위 효소세정액은 2.54, 2 단위 효소세정액은 2.46인 다른 두 군에 비해 유의하게 높게 나타났고($p < 0.001$), 효소세정액 내 함유 단위 간에 통계적 차이는 보이지 않았다. 이는 dextranase 양치를 통하여 치태의 건조중량은 유의하게 감소시켰으나 면적은 변화시키지 않았다는 Lobene²⁶⁾의 임상실험 결과와 달리 glucanhydrolase 함유 세정액이 치태축적 면적에도 영향을 미쳤음을 알 수 있다. 동일한 실험 모델과 지수를 사용한 Rosin 등의 연구를 보면 0.1% aromatic oil, 0.1% Cremophor, 10.4% ethanol(96%), 90.4% deionized water로 구성된 placebo는 3.17, PHMB(polyhexamethylene biguanide 0.04%)는 2.76, Skinsept[®] mucosa(0.12% chlorhexidine)는 2.75, 0.12% chlorhexidine은 2.37의 평균 치태 지수를 나타내었다. 치태 지수를 Rosin 등²⁵⁾의 연구와 직접 비교하는 것은 곤란하지만 본 실험에서 기본세정액은 Rosin의 실험에서의 위약대조군 보다 높은 치태 지수를 나타내었고, 효소 함유 세정액은 chlorhexidine에 비해서는 약간 낮은 치태 억제 효과를 보였지만, PHMB나 Skinsept[®] mucosa보다는 낮은 치태 지수를 보여 치태 억제가 더 우수하게 나타났다. Silness와 Löe 치태 지수로 나타난 축적치태 두께의 중앙값은 기본세정액이 2.33로 2.00인 1 단위 효소세정액과 1.94인 2 단위 효소세정액보다 통계적으로 유의하게 높았고($p < 0.001$), 세정액내 함유효소 단위에 의한 차이가

나타나지 않았다.

각 군별 치태 면적 지수의 차이를 보면 기본세정액과 1 단위 효소세정액은 0.38, 기본세정액과 2 단위 효소세정액은 0.46을 보이고 있고, 치태 두께 지수의 차이는 기본세정액과 1단위 효소세정액이 0.33, 기본세정액과 2단위 효소세정액이 0.39이다. 일반적으로 임상적 의의는 통계적 의의와 환자나 임상가의 영향 등을 모두 아울러서 결정되는데²⁷⁾ 임상적 의의는 임상가에 의한 주관적인 평가일 수도 있으므로 통계적 의의가 바로 임상적 의의라고 할 수는 없다²⁸⁾. 그러나 임상적 의의를 인정하기 전에 먼저 통계적 의의를 확보해야 하고, 향후 치료 과정을 간단하게 하거나, 환자나 임상이 모두 치주 건강유지를 용이하게 할 수 있어야 한다²⁸⁾는 점을 전제할 때 본 실험의 결과가, 적지만 임상적 의의를 지닐 수도 있다. 또한 본 연구 실험기간이 4일간으로 3주인 이전의 실험적 치은염모델에 비해 짧아 glucanhydrolase 함유 세정액에 의한 억제효과가 축적 치태의 두께나 면적 면에서 임상적 의의를 가질 수 있는 정도로 영향을 받으려면 칫솔질을 중단한 후 4일 이상의 긴 기간이 필요할 수 있다.

치태 심도지수의 측면에서 Turesky 변형 Quigley-Hein 치태 지수에 의한 치태면적 심도지수는 기본세정액이 0.76으로 각각 0.56과 0.58인 1 단위와 2 단위 효소세정액에 비해 통계적으로 유의하게 높게 나타났다($p < 0.001$), 세정액 내 효소 단위에 따른 차이는 나타나지 않았다. Silness와 Löe 치태 지수에 의한 치태두께 심도지수는 효소세정액 각 단위 사이에 통계적인 차이는 나타나지 않고, 기본세정액은 0.97으로 0.94인 1단위 효소세정액, 0.93인 2 단위 효소세정액과의 비교시 단지 효소 함유 세정액의 치태두께 심도지수가 낮은 경향($p=0.058\sim 0.079$)을 보였다. 이는 치태두께 지수에서 더 유의한 차이를 나타낸 손 등¹⁶⁾의 결과와는 달라 glucanhydrolase 함유 세정액이 치태 두께에 군간에 차이를 보이기까지의 기간이 짧았던 것으로 추정된다.

본 실험에서 세 군 모두 궤양, 혀의 침착물, 상피탈락, 혀나 점막의 작열감, 미각이상과 같은 세정제의 부작용이나 이상 작용은 나타나지 않았다. 이는 이

미 보고된 바와 같이^{16,17)} glucanhydrolase 함유 구강 세정액에서 혀의 침착물, 미각 이상, 상피탈락, 치아 변색 등의 부작용이 chlorhexidine 사용군에 비해 부작용이 낮기 때문이며, 또한 구강세정제를 사용한 기간이 짧았기 때문으로 보인다⁶⁾. 또한 세포 독성²⁰⁾에 있어서도 chlorhexidine 군에 비해 glucanhydrolase 가 훨씬 낮게 관찰되어 glucanhydrolase가 안전하다고 할 수 있다.

본 연구 결과 glucanhydrolase 함유 세정액이 두께와 면적에 있어서 치태 억제 효과가 0.01% benzethonium chloride 용액인 케어가글[®]을 사용한 기본세정액보다 우수하였다. 추후 시판 중인 세정제에 첨가하여 기능을 개선한 세정제의 개발과정에서 적절한 glucanhydrolase 효소활성과 농도를 찾아내고 이러한 효소성 구강세정제의 구강 세균 분포에 대한 영향 등에 관한 연구가 필요할 것이다.

V. 결론

치주적으로 건강한 성인 15명에서 시판되고 있는 0.01% benzethonium chloride 구강세정제에 *Lipomyces starkeyi* KSM 22 glucanhydrolase(1, 2 unit/ml)를 추가한 용액으로 칫솔질 없이 구강세정하게 하고 4일간 치태 축적상태를 평가하여 다음의 결과를 얻었다.

1. 치태 면적으로 본 치태 억제효과는 *Lipomyces starkeyi* KSM 22 glucanhydrolase 함유세정액이 기본세정액보다 통계적으로 유의하게 높았고 ($p < 0.001$), 사용 단위에 따른 차이는 없었다.
2. 치태 두께로 본 치태 억제효과도 *Liomyces starkeyi* KSM 22 glucanhydrolase 함유세정액이 기본세정액보다 통계적으로 유의하게 높았고 ($p < 0.001$), 사용 단위에 따른 차이는 없었다.
3. 치태면적 심도지수로 평가한 치태 억제효과는 *Lipomyces starkeyi* KSM 22 glucanhydrolase 함유세정액이 기본세정액보다 유의하게 높았으며 ($p < 0.01$), 치태두께 심도지수로 평가한 경우는 *Lipomyces starkeyi* KSM 22 glucanhydrolase 함

유세정액이 기본세정액보다는 높은 경향을 보였다.

이상의 결과는 시판 중인 구강세정제의 치태 억제 효과를 증진시키기 위하여 *Lipomyces starkeyi* KSM 22 glucanhydrolase 첨가가 효과적일 수 있음을 시사하였다.

VI. 참고문헌

1. Lobene RR. Clinical studies of plaque control agents: an overview. *J Dent Res* 1979;58:2381-2388.
2. Johnson RH, Rozanis J. A review of chemotherapeutic plaque control. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1979;47:136-141.
3. Hull PS. Chemical inhibition of plaque. *J Clin Periodontol* 1980;7:431-442.
4. Segreto VA, Collins EM, Beiswanger BB, De la Rosa MR, Issacs RL, Lang NP, Mallatt ME, Meckel AH. A Comparison of mouthwashes containing two concentrations of chlorhexidine. *J Periodont Res* 1986;21(Suppl 16):26-32.
5. 류인철. 수종의 상용 세치제들의 항균 및 항염효과 비교 연구. 대한치주과학회지 1996;26:557-566.
6. Banting D, Bosma M, Bollmer B. Clinical effectiveness of 0.12% chlorhexidine mouth rinse over two years. *J Dent Res* 1989;68:1716-1718.
7. Gjermo P. Chlorhexidine and related substances. *J Dent Res* 1981;68:1602-1608.
8. Walker GJ, Pulkownik A, Morrey-Jones JG. Metabolism of the polysaccharides of human dental plaque: release of dextranase in batch cultures of *Streptococcus mutans*. *J Gen Microbiol* 1981;127:201-208.
9. Hamada S, Mizuno J, Murayama Y, Ooshima Y, Masuda N. Effect of dextranase on the extracellular polysaccharide synthesis of *Streptococcus mutans*: chemical and scanning electron

- microscopy studies. *Infect Immun* 1975;12:1415-1425.
10. Wenham DG, Davis RM, Cole JA. Insoluble glucan synthesis by mutansucrase as a determinant of the cariogenicity of *Streptococcus mutans*. *J Gen Microbiol* 1981;127:407-415.
 11. Goldstein-Lifschitz B, Bauer S. Comparison of dextranases of their possible use in eliminating dental plaque. *J Dent Res* 1976;55:886-892.
 12. Schachtele CF, Staat RH, Harlander SK. Dextranase from oral bacteria: inhibition of water-insoluble glucan production and adherence to smooth surfaces by *Streptococcus mutans*. *Infect Immun* 1975;12:309-317.
 13. Caldwell RC, Sandham HJ, Mann WV Jr, Finn SB, Formicola AJ. The effect of a dextranase mouthwash on dental plaque in young adults and children. *J Am Dent Assoc* 1971;82:124-131.
 14. Kim D, Ryu SJ, Hoe SJ, Kim DW, Kim HS. Characterization of a novel carbohydrolase from *Lipomyces starkeyi* KSM 22 for dental application. *J Microbiol Biotechnol* 1999;9:260-264.
 15. Ryu SJ, Kim D, Ryu HJ. Purification and partial characterization of a novel glucanhydrolase from *Lipomyces starkeyi* KSM 22 and its use for inhibition of insoluble glucan formation. *Biosci Biotechnol Biochem* 2000;64:223-228.
 16. 손은주, 김영준, 김도만, 정현주. 실험적 치은염에서 dextranase 함유 구강 세정액의 양치효과. 대한치주과학회지 2001;31:401-420.
 17. 송우성, 손은주, 김도만, 정현주. Dextranase 함유 구강 세정액의 치태 억제 및 치은염 예방 효과에 관한 임상적 연구. 대한치주과학회지 2001;31:371-388.
 18. Addy M, Willis L, Moran J. Effect of toothpaste rinses compared with chlorhexidine on plaque formation during a 4-day period. *J Clin Periodontol* 1983;10:89-99.
 19. Turesky S, Gilmore ND, Glickman I. Reduced plaque formation by the chloromethyl analogue of vitamin C. *J Periodontol* 1970;41:41-43.
 20. Ramfjord SP. Indices for prevalence and incidence of periodontal disease. *J Periodontol* 1959;30:51.
 21. Newman MG, Takei HH, Carranza FA. Carranza's clinical periodontology, 9th ed. W. B. Saunders, 2002:84.
 22. L  e H, Silness J. Periodontal disease in pregnancy. 1. Prevalence and severity. *Acta Odontol Scand* 1963;21:533-551.
 23. Allen DR, Davies R, Bradshaw B. Efficacy of a mouthrinse containing 0.05% cetylpyridinium chloride for the control of plaque and gingivitis: a 6-month clinical study in adults. *Compend Contin Educ Dent* 1998;19(2 Suppl):20-26.
 24. Binney A, Addy M, McKeown S, Everatt L. The effect of a commercially available triclosan-containing toothpaste compared to a sodium-fluoride-containing toothpaste and a chlorhexidine rinse on 4-day plaque regrowth. *J Clin Periodontol* 1995;22:830-834.
 25. Rosin M, Welk A, Bernhardt O, Ruhnau M, Pitten FA, Kocher T, Kramer A. Effect of a poly-hexamethylene biguanide mouthrinse on bacterial counts and plaque. *J Clin Periodontol* 2001;28:1121-1126.
 26. Lobene RR. 2. A clinical study of the effect of dextranase on human dental plaque. *J Am Dent Assoc* 1971;82:132-135.
 27. Jeffcoat M. What is clinical significance? *J Clin Periodontol* 2002;29(Suppl 2):30-32.
 28. Killoy WJ. The clinical significance of local chemotherapies. *J Clin Periodontol* 2002;29(Suppl 2):22-29.
 29. 윤현정, 정현주, 김옥수, 김도만. *Lipomyces starkeyi* KSM 22 Glucanhydrolase 용액의 치은 섬유아세포에 대한 영향. 대한치주과학회지 2002;32:665-683.

Effect of mouthrinse containing *Lipomyces starkeyi* KSM 22 glucanhydrolase on plaque formation during a 4-day period

Eun-Ju Seo¹, Hyun-Ju Chung¹, Young-Jun Kim¹, Ok-Su Kim¹, Sang-Heuk Kim²

Dept. of Periodontology, College of Dentistry and Dental Science Research Institute,
Chonnam National University¹, Lifeenza Co. Ltd²

A novel glucanhydrolase from *Lipomyces starkeyi* KSM 22 has been suggested as a promising anti-plaque agent because it has been shown to have additional amylase activity and mutanase activity besides dextranase activity and to strongly bind to hydroxyapatite. Mouthrinsing with *Lipomyces starkeyi* KSM 22 glucanhydrolase solution was comparable to 0.12% chlorhexidine mouthwash in inhibition of plaque accumulation and gingival inflammation and local side effects were less frequent and less intense in human experimental gingivitis. In this study, *Lipomyces starkeyi* KSM 22 glucanhydrolase mouthrinses (1 and 2 unit/ml) were compared with a control mouthrinse (commercial 0.01% benzethonium chloride mouthrinse, Caregargle[®], Hanmi Pharmaceuticals) in the ability to inhibit plaque formation.

A 3-replicate clinical trial using 4-day plaque regrowth model was used. Fifteen volunteers were rendered plaque-free on the 1st day of each study period, ceased toothcleansing, and rinsed 2X daily with allocated mouthrinse thereafter. On day 5, plaque accumulation was scored and the washout periods was 9 days for the next trial.

Lipomyces starkeyi KSM 22 glucanhydrolase(1 unit and 2 unit)- containing mouthrinse resulted in significantly lower plaque formation in plaque area and thickness, compared to the control mouthrinse. There was no significant difference in plaque inhibition between enzyme-mouthrinses at 2 different concentrations used. This glucanhydrolase- containing mouthwash resulted in significantly lower plaque area severity index score and tended to have lower plaque thickness severity index score than those of control mouthrinse. But there was no significant difference according to the enzyme concentration.

From these results, *Lipomyces starkeyi* KSM 22 glucanhydrolase-containing benzethonium chloride mouthrinse has greater anti-plaque effect than the commercial mouthrinse alone. Therefore this glucanhydrolase preparation is a promising agent for new mouthwash formulation in the near future.

Key words : *Lipomyces starkeyi* KSM 22 glucanhydrolase, 4-day plaque regrowth model, benzethonium chloride mouthrinse