후박 및 대조추출혼합물이 골조직 재생에 미치는 영향

이용무* · 구 영* · 배기환** · 정종평*

*서울대학교 치과대학 치주과학교실 및 치학연구소
**충남대학교 약학대학

I. 서 론

치주질환은 치태 내 치주병원균에 의한 감염성 질환으로 치주조직 특히 치조골 파괴가 가장 전형적인 증상으로 나타나게 된다. 따라서 치주질환의 가장 이상적인 치료목표는 질환의 진행을 막고, 질환에 의해 결손된 치주조직의 완전한 재생을 이루는 거이라 하겠다. 치주조직의 재생에 관한 연구들을 통해 보면, 그 기본적인 개념은 질환의 원인이 되는 치태, 치석 등의 세균요인과, 염증조직 및 기타 불필요한 감염 조직을 제거함으로써 새로운 조직의 재생에 필요한 환경을 만들어줌과 더불어, 치주조직의 재생능력을 증강시켜 치주인대 및 골조직 세포의 선택적인 증식을 통한 건강한 치주조직으로의 재형성을 유도하는 것이다[1, 2]. 치주조직 재생능력 증강을 위하여 선택적으로 치주조직 재생 관련세포의 증식, 유주 및 분화유도를 꾀하고자 하는 연구들은 실험실적 결과와 일부 동물실험을 통하여 성공적인 가능성들이 제시되고 있기는 하나, 임상에서의 응용은 아직 미비한 상태이다[3, 4].

실제 임상에서의 적용을 위한 치주조직 재생제제로는 성장인자인 platelet drived growth factor(PDGF), insulin like growth factor(IGF) 등[5, 6]과 세포외기질의 성분인 fibronectin등[7~9]이 있다. 하지만 이러한 인자들의 임상에서의 이용은 실용화되기에는 저렴하지 않고, 국소조직에 이용시 신체 타기관에 미치는 영향이나 손상조직에 이용시의 각종 분해효소에 의한 효과차단 등에 관한 문제점들, 그리고 응용방법의 개발비용 등으로 상품화되기에는 아직 경제성 등이 문제가 되고 있는 실정이다. 그 외에 항염 및 항균효과를 가지면서 골조직 재생에 좋은 효과를 보이는 제제로서 flurbiprofen과 tetracycline을 들 수 있는데[10~15], flurbiprofen등의 NSAID 계통의 약제들이 PGE_2 생산 억제효과를 보이면서, 저농도의 장기 복용으로 골재생의 효과를 보인 연구결과가 있고, 또한 tetracycline은 항균효과와 더불어 collagenase와 gelatinase의 활동을 억제함으로써 골흡수를 억제하며 이로 인한 결손 골조직의 재생에 간접적으로 기여한다는 연구결과가 있다. 하지만 그 효과 및 부작용에 관하여 아직도 계속적인 연구가 진행되

* 본 연구는 1996년도 보건복지부 신약개발 연구비 지원으로 이루어짐

고 있다. 그러므로 이러한 성장인자와 약제의 효능, 효과와 비견할 수 있는 생약제제를 이용한다면 안전하고 경제적이며 범용이 가능한 전망이 보인다.

실제 생약제제를 이용한 제제로서 옥수수 불검화추출물 등의 일부 상품화된 제제와 그 효과에 관한 연구들이 있으나[16~21], 실제적 임상적용시의 효능에 대한 과학적인 근거자료도 부족하며 치주전문의의 전문적 처방에 의한 사용도 미미한 실정이다. 그 외 여러 생약제제에 관한 전래된 효능, 효과를 토대로, 이들의 치주질환 치료제로서의 가능성에 관하여, 치주조직 재생능력, 항균 및 항염작용 등에 관한 과학적인 분석이 계속 진행되고 있는데, 그 중 후박 및 대조추출물이 두드러진다 하겠다. 후박추출물의 항균효과, IL-1β 및 PGE_2 생산 차단효과 그리고 collagenase 활동 억제효과 등이 확인된 바 있고 대조추출물은 IL-1β 및 PGE_2 생산 차단효과, collagenase 활동 억제효과 그리고 치은섬유아세포 활성화 증진효과 등이 확인된 바 있다[22~31]. 하지만 이러한 연구는 아직 실험실적 연구결과일 뿐이며, 실제 임상에의 응용을 위한 적절한 동물실험의 결과가 뒷받침할 필요성이 있다.

이 연구의 목적은 이러한 임상응용을 위한 뒷받침이 되는 동물실험을 통하여, 후박 및 대조추출혼합물의 배합비율과 이 두 약제의 투약량 결정 및 이에 따른 골재생 효과를 검토하고자 하는데 있다.

I. 연구재료 및 방법

1. 후박 및 대조추출혼합물의 치은섬유아세포 활성도 측정(혼합비 결정을 위한 예비실험)

(1) 혼합물의 농도 및 혼합비 결정

후박 및 대조추출혼합물의 투여에 의한 골조직 재생효과를 측정하기 위한 준비로서 그 조성비를 결정하고자 기존의 항균, 항염 및 세포활성도 평가에 관한 연구결과들을 토대로 후박추출물의 농도를 각각 2000과 3000μg/ml의 농도를 가지고 실시키로 하였으며 대조추출물은 20, 200 및 2000μg/ml과 30, 300 및 3000μg/ml으로 각각 구분하여 이 두조성물을 각각 혼합하여 치은섬유아세포에 대한 활성도를 측정하여, 그 결과를 투약 혼합비로 결정키로 하였다.

(2) 치은섬유아세포 활성도 측정

혼합조성물의 조직재생 효과를 위한 실험에서 이용될 조성물의 농도비율을 결정하기 위하여 각 조성물의 치은섬유아세포 활성도를 측정하였다. 치은섬유아세포 배양을 위하여 서울대학병원에 교정치료를 위하여 내원한 환자를 대상으로 건강한 제일소구치의 치은을 채취하였다. 채취한 조직편을 100U/ml Penicillin과 100μg/ml Streptomycin 및 10% FBS가 첨가된 α-MEM(GIBCO, In., Grand island, N.Y., U.S.A)을 이용하여 세포배양을 시행하였으며 3일 간격으로 배양액을 교환해 주면서 5계대 배양하여 실험에 사용하였다. 배양시 습도는 95%, 온도는 37℃를 유지하면서 95% 공기와 5%의 CO_2를 계속 공급하였다. 배양한 치은섬유아세포를 0.25% Trypsin-EDTA용액으로 처리한 후 원심분리하고, 배양액으로 세포부유액을 만들어 표준혈구 계산기로 well당 1×10^5개의 세포수가 되게 하여 24-well plate에 접종후 배양하였다. 다음날 배양액을 교환하고 이틀째 되는 날 배양액을 제거한 후 HBSS로 세척하였다. 각 well에 미리 정해놓은 농도의 각 추출혼합물이 첨가된 배양액으로 교환하여 24시간 배양하고 배양액 제거후 생리식염수에 용해한 MTT (methyl thiazol-2-YL-2, 5-diphenyl tetrazolium bromide, Sigma Co., St. Louis, M.O., U.S.A.)용액 50μl를 각 well에 넣고 4시간동안 배양한 후 MTT용액을 제거하고

formazon 결정을 용해시키기 위해 DMSO를 각 50㎕씩 첨가하였다. Plate를 잘 흔든 후 ELISA reader(Thermo max, molecular devices, Menlo Park C.A. U.S.A.)로 570nm에서 흡광도를 측정하였다[32]. 대조군으로는 매 실험마다 실험용액이 들어있지 않은 배양액 well을 사용하였다. 모든 실험결과는 대조군에 대한 백분율로 계산하였다.

2. 후박 및 대조추출혼합물의 골조직 재생효과 검정

(1) 실험군 결정 및 투약

후박 및 대조추출혼합물과 옥수수 불검화추출물의 조직재생효과를 검정하기 위하여 백서 두개골의 조직재생능력 정도로 판별하였다. 이 실험을 위하여 후박과 대조추출물의 혼합비를 예비실험을 통하여 10:1로 혼합 조성키로 하고, 혼합조성물 전체의 일일 투여량을 수술 백서당 0.1g/kg(3군)과 0.5g/kg(4군)으로 두군으로 나누고, 양성대조군으로 사용한 옥수수 불검화추출물의 일일투여량도 수술백서당 0.1g/kg(1군)과 0.5g/kg(2군)의 두군으로 나누었으며, 약제를 투약하지 않은 군을 음성대조군으로 하여, 오전 및 오후에 한번씩 1일 2회로 oral zonde needle 을 이용하여 위에 직접 투약하였다.

(2) 투약실험 및 골조직 재생효과 관찰

체중 200-250g의 백서에 30mg/kg의 pentobarbital sodium(Hanlim Pharm Co., Seoul, Korea)을 복강주사하여 마취하고 두부의 털을 깍은 후 0.5% chlorhexidine으로 수술부위를 소독하였다. 수술중의 안정과 편리를 위해 백서의 머리를 두부고정기(cephalostat)에 고정하고, 전두골 앞쪽에서 후두골 후방부까지 정중부를 따라 절개하고 피부와 점막부위를 바깥쪽으로 젖힌 후 두개골을 노출시켰다. 측두골의 한쪽을 trephine bur(3i, Florida, U.S.A)를 사용하여 뇌막 등에 손상을 주지 않도록 하여 직경 5mm의 구멍을 뚫은 후 봉합하였다. 투약 1주, 2주 및 3주째 각각 희생시켜 10% formalin에 고정하고 10% nitric acid에 5일간 넣어 탈회시킨 후 탈수고정 및 paraffin 포매를 실시하였다. 포매된 표본을 6㎛ 두께로 절편을 만들어 Masson-trichrome 염색을 실시하여 Olympus BH-2(Olympus Optical Co., Ltd, Osaka, Japan) 광학현미경으로 조직소견을 관찰하여 골 및 조직 재생효과를 비교 관찰하였다.

Ⅲ. 연구결과

1. 후박 및 대조추출혼합물의 치은섬유아세포 활성도 측정

후박 및 대조추출혼합물 용량 및 조성비에 따른 치은섬유아세포에 대한 활성효과를 평가하기 위한 실험에서 후박추출물 2000㎍/ml과 대조추출물 20㎍/ml의 100:1 혼합물을 사용시 105%의 세포활성화 효과를 보이며, 2000㎍/ml과 200㎍/ml의 10:1 혼합물 투여시 110%의 세포활성화 효과가 나타났다. 또한 2000㎍/ml의 후박추출물과 2000㎍/ml의 대조추출물을 1:1로 혼합사용시 101%의 세포활성도를 보였다. 그러나 후박추출물 3000㎍/ml과 대조추출물 30㎍/ml의 100:1 혼합물 사용시 89%의 세포활성도를 보이며, 3000㎍/ml과 300㎍/ml을 각각 혼합한 10:1 혼합물 투여시 93.6%의 세포활성도를 보였고, 후박추출물 3000㎍/ml과 대조추출물 3000㎍/ml을 각각 1:1로 혼합하여 사용시 94%의 세포활성도가 나타났다(표 1).

각 조성비에 따른 치은섬유아세포 활성도 측정결과, 1:1에서 10:1 범위의 조성비가 치은섬유아세포에 대한 활성 증진효과가 있는 것으로 판단되며 이를 근거로 백서 두개골 결손부 재생효과에 대한 약물 투여 조성비를

10:1로 하기로 결정하였다.

표 1 후박 및 대조추출혼합물 조성비 결정 평가실험 (치은섬유아세포 활성효과)

결과 / 혼합물 조성비	Mean-O.D	Mean±S.E(%)
Control	0.27±0.02	100
EtOH(0.5%)	0.24±0.02	89.1±2.3
M:2000 Z: 20	0.28±0.03	105.3±3.7
M:2000 Z: 200	0.29±0.02	105.3±3.7
M:2000 Z: 2000	0.27±0.02	110.5±3.4
M:3000 Z: 30	0.24±0.01	89.8±2.7
M:3000 Z: 300	0.25±0.02	93.6±3.1
M:3000 Z: 3000	0.25±0.02	94.4±2.9

M : 후박추출물(㎍/ml)
Z : 대조추출물(㎍/ml)

2. 후박 및 대조추출 혼합물의 골조직 재생효과 검정

음성대조군은 약물을 전혀 투여하지 않은 군이고 양성대조군은 기존의 치조골 재생에 효과가 있는 것으로 알려진 옥수수 불검화추출물을 이용하여 각각 0.1 및 0.5g/kg의 용량을 1주, 2주 및 3주간 투여 후 관찰하였고 실험군은 후박 및 대조추출혼합물 0.1과 0.5g/kg의 용량을 1주, 2주 및 3주간 투여 후 관찰하였다.

표 2는 각 약제의 투여용량에 따른 백서 두개골 결손부의 치유양태를 경과별로 나타내고 있는데, 약물비투여군 및 양성대조군(2군 및 3군)에서는 2주 경과 후부터 골양조직 및 신생골 형성에 의한 골조직 회복의 양상이 확인되고 있는 반면, 실험군인 후박 및 대조추출혼합물 투여군의 경우는 투여 1주 후부터 골회복의 양상이 시작되며, 특히 후박 및 대조추출혼합물 0.5g/kg투여군(4군)의 경우 골재생의 진행이 두드러지게 확인되고 있는데, 투여 3주 경과 후에는 거의 완전한 골유합 및 재생이 관찰되고 있다.

약물을 투여하지 않은 음성대조군 2주표본에서는 두개골 결손부 변연에서부터 약간의 신생골이 형성되기 시작하며 전체 골 결손부는 대부분 섬유성 결체조직으로 채워져 있는 양상을 보이고 있다(그림 1).

양성대조군인 1군(옥수수 불검화추출물 0.1g/kg투여군)의 2주 표본은 결손부 내부에 결체조직으로 대부분 차 있고 기존 골조직 주변으로 신생골 형성과 골양조직 형성이 나타나고 있으나 음성대조군과 별다른 차이를 보이고 있지 않다(그림 2). 양성대조군인 2군(옥수수 불검화추출물 0.5g/kg 투여군)의 2주

표 2 후박 및 대조추출 혼합물의 백서 두개골 결손부 골조직 재생효과

실험군 / 경과	비투여군 (음성대조군)	옥수수 불검화추출물(양성대조군)		10:1 후박 및 대조추출혼합물	
		0.1g/kg(1군)	0.5g/kg(2군)	0.1g/kg(3군)	0.5g/kg(3군)
1주	-	-	-	-	+
2주	+	+	+	+	++
3주	+	+	+	++	+++

+ :골 결손부의 신생골 및 골양조직 형성
++ :골 결손부의 신생골 및 골양조직 형성에 의한 골유합
+++ : 골 결손부의 완전한 골재생

표본에서 보면 결손부 내부에는 섬유성 결체조직으로 차 있고 기존 결손 골조직에서 신생골 및 골양조직이 내부 골 결손 공간으로 형성되고 있으나 전체적인 골유합은 이루어지지 못하고 있다(그림 3). 실험군인 3군(후박 및 대조추출혼합물 0.1g/kg 투여군)의 2주 표본에서 보면, 결손부 내부에는 결체조직으로 차 있고 기존 골조직으로부터 신생골과 골양조직의 발달이 활발히 이루어지고 있으나 아직까지 골 결손 공간을 다 채우지는 못하고 있으며, 골유합이 이루어지지 못하고 있다(그림 4). 실험군인 4군(후박 및 대조추출혼합물 0.1g/kg 투여군)의 2주 표본에서 보면 결손부는 신생골과 골양조직으로 차 있으며 골유합이 이루어져 가고 있음이 관찰된다. 골양조직에는 활발한 골세포의 존재를 확인할 수 있으며 신생골 형성이 크게 이루어졌음이 관찰된다. 전체적으로 음성대조군 및 양성대조군인 1, 2군 그리고 실험군인 3군에 비해 현저한 골재생 양태가 확인되고 있다(그림 5).

약물을 투여하지 않은 음성대조군 3주 표본에서는 결손부 양측에서부터 중앙으로 나오면서 신생골 및 골양조직 형성이 활발히 진행된다. 그러나 골 결손부 중앙부는 여전히 결체조직으로 채워져 있다(그림 6).

양성대조군인 1군(옥수수 불검화추출물 0.1g/kg 투여군)의 3주 표본에서 보면 결손부 변연 양측에서부터 신생골 형성이 활발히 진행되어 중앙으로 자라오고 있으나 중앙부는 결체조직으로 채워져있고 신생골 및 골양조직의 양은 음성대조군과 비슷한 정도이다(그림 7). 양성대조군인 2군(옥수수 불검화추출물 0.5g/kg 투여군)의 3주 표본에서 보면 결손부 변연 양측으로부터 신생골 및 골양조직의 성장이 활발하며 골 결손부 중앙부 부근까지 골양조직이 생성되고 있으나 중앙부에는 여전히 결체조직이 남아있는 것이 확인된다. 음성대조군 및 양성대조군 1군보다는 보다 현저한 신생골 형성이 나타나고 있다(그림 8).

실험군인 3군(후박 및 대조추출혼합물 0.1g/kg 투여군)의 3주 표본에서 보면, 결손부 변연 양측으로부터 신생골 및 골양조직의 성장이 활발히 이루어져서 골 결손부가 모두 골양조직으로 차면서 골유합이 되어 있으며, 골양조직이 활발히 신생골로 대체되는 것이 보인다(그림 9). 실험군인 4군(후박 및 대조추출혼합물 0.5g/kg 투여군)의 3주 표본에서 보면 결손부 변연 양측으로부터 신생골 형성이 활발히 이루어져서 골유합이 완벽하게 이루어지면서 거의 완전한 골재생이 관찰된다(그림 10).

Ⅳ. 총괄 및 고찰

치주조직 재생을 위한 치료방법으로는 치주조직을 파괴하는 주된 세균성 병원인자들을 제거함으로써 계속적인 조직의 파괴나 골흡수를 저지하여 생체의 자가 재생능력을 기대함과 더불어, 파괴된 조직부위의 재생을 위하여 각종 이식재를 충전, 이식하며 동시에 치주조직 재생과 직접적으로 관련이 있는 골아세포 및 치주인대세포의 증식 및 유주를 증강시키는 약물의 조직 결손부 투입에 의한 적극적인 재생법을 생각할 수 있다. 본 연구에서는 국소 세균성인자의 제거 및 자가재생능력 강화를 위한 방법 개발의 하나로 생약제제 중, 세포활성도를 증진시키고 항염작용이 있는 것으로 알려진 대조추출물과 항균 및 항염작용이 인정되고 있는 후박추출물을 혼합함으로서 이 두 혼합물을 적절한 비율로 배합하여 투여시 동물의 골조직 결손부위의 재생정도를 생체실험을 통하여 관찰하고자 하였다.

그간의 보고에서 보면 대조추출물이 치은섬유아세포 활성도 증진에 뛰어난 효과를 나타내고 있고 치은섬유아세포 및 치주인대세포의 화학주성에도 증진효과가 확인된 바 있다

[28, 29]. 또한 후박추출물은 항균효과는 훌륭하지만 오히려 세포의 성장을 저해하는 경향이 일부 나타나고 있음이 알려져 있다[26, 27]. 이를 토대로 하여 판단할 때, 이 두 추출물의 혼합물에 의한 치은섬유아세포의 세포활성에 대한 영향을 해석해보면, 혼합물 조성상 대조추출물의 양이 상대적으로 증가할수록 치은섬유아세포의 활성 증진효과가 크지만, 후박추출물의 양이 증가하면 그 활성이 낮아짐을 알 수 있다. 특히 후박추출물 2000㎍/ml과 대조추출물 200㎍/ml의 10:1 혼합물 투여시 치은섬유아세포의 세포활성 증진효과가 가장 탁월하였고 100:1혼합물 및 1:1혼합물은 세포활성 증진효과가 약간씩 감소하고 있다. 후박추출물 3000㎍/ml투여군들에서 보면 2000㎍/ml투여군들에 비해 상대적으로 세포활성 증진효과가 떨어지고 있는데 이는 후박추출물의 성장 저해효과에 기인된 것으로 생각되며, 대조추출물의 조성비가 증가할수록 약간씩 세포활성도가 회복되는 경향을 보임을 알 수 있다.

백서 두개관 결손부 치유에 관한 실험결과 2주 표본에서 보면, 음성대조군에 비해 옥수수 불검화추출물 투여군과 후박 및 대조추출혼합물에서 모두 기존 골조직으로부터 신생골 및 골양조직이 보다 활발히 형성되고 있음을 알 수 있다. 특히 4군(후박 및 대조추출혼합물0.5g/kg투여군)에서는 골 결손부가 신생골 및 활발한 골세포를 포함한 골양조직으로 완전히 차면서 골유합이 되고 있음이 관찰되고 있다. 양성대조군인 옥수수 불검화추출물 투여군에서도 골 결손부의 치유가 어느 정도 촉진된 양태를 보이고 있긴 하지만 전체적인 골유합은 이루어지지 못하고 있고 결체조직의 양이나 골양조직의 형태로 미루어 보아 후박 및 대조추출혼합물의 골 결손부 재생 촉진효과에는 미치지 못하고 있다. 3주 표본에서 보면, 음성대조군과 옥수수 불검화추출물 투여군(1군 및 2군)에서는 여전히 결체조직이 골 결손부에 남아있는 것에 반해, 실험군(3군 및 4군)에서는 골결손부가 모두 골양조직 및 신생 골조직으로 채워져 있는 것을 알 수 있다.

특히 4군의 경우는 신생골 형성이 활발하여, 골 결손부가 거의 완벽하게 재생되고 있다. 옥수수 불검화추출물은 익히 알려진 치주질환 치료보조제로서 치주인대의 재생, 치은의 각화도 증진, 치아동요도의 감소 및 치조골의 재생 등의 작용으로 해서 몇몇 상품화된 제제까지 시판되고 있다[16~21]. 본 실험의 골 결손부 재생효과에 대한 결과로 미루어 볼 때, 후박 및 대조추출혼합물의 골 결손부 치유촉진 및 재생효과는, 기존에 골재생 효과가 있는 것으로 보고되고 있는 옥수수추출물의 경우에 못지 않으며 오히려 앞서고 있는 것으로 확인되고 있다. 이러한 결과는 대조추출물의 세포활성 증진효과가 골조직 재생 관련세포에도 증진효과가 있는 것으로 생각되며, 후박추출물 역시 작용하였다고 생각되는데, 후박추출물은 항균효과 이외에 PGE_2 생산 차단효과 및 교원질분해효소 활동 억제효과 등[27, 31]으로 인해 골조직재생에 간접적인 작용을 하였으리라 생각된다.

치주질환에서의 염증반응 및 조직파괴 기전상 IL-1β, PGE2 및 collagenase 등의 작용 및 그 역할 등[37~35]을 고려할 때, 본 실험결과와 기존의 보고들을 종합하여 미루어보면, 이 두 혼합물의 복합작용에 의한 IL-1β 및 PGE2의 생산차단 효과 그리고 collagenase 활성화 저지 등을 통하여, 치주질환에서 이 천연물들의 치조골흡수 저지효과의 가능성을 유추할 수 있으며, 치은섬유아세포 및 치주인대세포의 활성증진 및 화학주성 증진효과 등이 치주조직 재생에 긍정적인 효과가 기대된다고 하겠다. 이 두 물질의 각 치주조직내 세포 및 조직반응에 대한 생물학적 활성도에 관하여는 좀더 조절된 연구가 필요할 것으로 생각되며, 실제 치주질환시의 치주조직에 적용된 동물

실험 및 그 영향 평가에 따른 인체 치주질환에서의 적용 가능성에 대한 시도들이 계속 연구되어야 할 것으로 생각된다. 또한, 향후 이러한 연구들이 치주치료시 사용 가능한 치료제개발에 있어 생약 추출물들의 가능성에 대한 중요한 토대가 될 것으로 사료된다.

V. 결 론

후박 및 대조추출혼합물의 배합비율과 투약량 결정 및 이에 따른 효과를 검토하고자, 치은섬유아세포에 대한 활성 촉진효과 및 백서의 두개골 결손부의 골재생에 미치는 영향을 평가하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 치은섬유아세포에 대한 활성 증진효과 평가결과, 10:1조성비의 2000㎍/ml의 후박추출물과 20㎍/ml의 대조추출물의 혼합물이 가장 우수한 세포활성 증진효과를 보였다.
2. 백서 두개골 결손부의 골재생에 대한 조직학적 평가결과, 옥수수 불검화추출물과 후박과 대조추출혼합물 투여군은 0.1g/kg 및 0.5g/kg 용량 모두에서 비투여군에 비하여 유의한 골조직 재생 촉진효과가 관찰되었다.
3. 10:1 조성비의 후박 및 대조추출혼합물 0.1g/kg 및 0.5g/kg 투여군은 비투여군 및 동량의 옥수수 불검화추출물 투여군에 비하여 우수하였고, 모든 실험군중 후박 및 대조추출혼합물 0.5g/kg투여군에서 가장 좋은 골재생효과를 보였다.

참고문헌

1. Takata T : Oral wound healing concepts in periodontology. Curr Opin Periodontol 1994 : 119-127.
2. Garrett S : Early wound healing stability and its importance in periodontal regeneration. pp41-51 In AM Polson(ed), Periodontal regeneration : Current status and Directions. Quintessence Publishing Co., U.S.A. 1994.
3. Amar S, Chung KM : Clinical implications of cellular biologic advances in periodontal regeneration. Curr Opin Periodontol 1994 :128-140.
4. O'neal R, Wang H-L, MacNeil RL, Somerman MJ: Cells and materials involved in guided tissue regeneration Curr Opin Periodontol 1994 : 141-156.
5. Rutherford RB, Niekrash CE, Kennedy JE, Charette MF : Platelet-derived and insulin-like growth factors stimulate regeneration of periodontal attachment in monkeys. J Periodont Res 1992, 27 : 285-290.
6. Graves DT, Cohcran DL : Periodontal regeneration with polypeptide growth factor. Curr Opin Periodontol 1994 : 178-186.
7. Ripamonti U, Petit JC, Lemmer J, Austin JC : Regeneration of the connective tissue attachment on surgically exposed roots using a fibrin-fibronectin adhesive system: An experimental study on the Baboon(Papio Ursinus). J Periodont Res 1987, 22 : 320-326.
8. Warrer K, Karring T : Effect of Tisseel on healing after periodontal flap surgery. J Clin Periodontol 1992, 19 : 449-454.
9. Caffesse RG, Nasjleti CE, Andeson GB, Lopatin DE, Smith BA, Morrison EC: Periodontal healing following guided tissue regeneration with citric acid and fibronectin application. J Periodontol

1991, 62 : 21-29.
10. Williams RC, Jeffcoat MK, Wechter WJ, Johnson HG, Kaplan ML, Goldhaber P : Non-steroidal anti-inflammatory drug treatment of periodontitis in beagles. J Periodont Res 1984, 19 : 633-637
11. Jeffcoat MK, Williams RC, Johnson HG, Gandrup JS, Goldhaber P : Flurbiprofen treatment of periodontal disease in Beagles. J. Periodont Res 1986, 21 : 624-633.
12. Jeffcoat MK, Williams RC, Reddy MS, English R, Goldhaber P : Flurbiprofen treatment of human periodontitis; Effect of alveolar bone height and metabolism. J Periodont Res 1988, 23 : 381-385.
13. Terranova VP, Franzetti LC, Hic S : A biochemical approach to periodontal regeneration : Tetracycline treatment of dentin promotes fibroblast adhesion and growth, J Periodont Res 1986, 21 : 330-337.
14. Rifkin BR, Vernillo AT, Golub LM : Blocking periodontal disease progression by inhibiting tissue destructrice enzyme : A potential therapentic role for tetracycline and their chemically-modified analogs. J Periodontol 1993, 64 : 819-827.
15. Greenwald RA, Moak SA, Ramamurthy NS, Golub LM : Tetracyclines suppress metalloproteinase activity in adjuvant arthritis, and in combination with flurbiprofen, ameliorate bone damage. J Rheumatol 1992, 19 : 927-938.
16. Chaput A : Insadol and Parodontolysis. L'Information Dentaire 1964, 23 : 2148-2153.
17. Morgues F : A double blind study of Insadol. Minerva Stomat 1970, 19(7-8), 293-298.
18. Porte J, Duland B, Parret J : Clinical and Ultrastructural study of the action of corn oil insoponifiable in the course of human periodontal disease. Report of osteocytic activity. Acutalites odonto-stomatologiques 1978, 121 : 125-139.
19. Chaput A, Krikorian K, Brion M, Labie C, Perrault M : Effect of Insadol on experimental periodontal disease in mamster. Revue Francaise d'odnnto-stomatologiques 1971, 18-9 : 1145-1154.
20. Krevel B, Cleargeau-Guerithault S, Brion M : A scaning electron microscopic study of experimental disease. Its induction and inhibition. J Periodontol 1975, 46 : 27-32.
21. 최상묵, 한수부, 황광세 : Zea Mays L 의 불검화 정량추출물(DENTADOL)이 외과적 치주치료후 치유에 미치는 효과에 관한 임상적 연구. 대한치주학회지 1989, 19 : 63-70.
22. Namba T, Tsunezuka M, Bae, KH and Hattori M : Studies on dental caries prevention by traditional chinese medicines. Shoyakugaku Zasshi 1981, 35 : 295-302.
23. Bae KH : The study on the antibactenial components of higher plants against a cariogenic bacterium, Streptococcus mutans. Proc. 2nd Int. Sym. on Recent Advances in Natural Products Research 1989, 12-14.
24. Bae KH and Oh, HR : Synergistic effect of lysozyme on bacterial activity of magnolol and honokiol against a carriogenic bacterium, Streptococcus

mutans OMZ 176. Arch Pharm Res 1990, 13 : 117-119.
25. Osawa K, Matsumoto T, Yasuda H, Kato T, Naito Y, Okuda K : The inhibitory effect of plant extracts on the collagenolytic activity and cytotoxicity of human gingival fibroblasts by Porphyromonas gingivalis crude enzyme. The bulletin of Tokyo Dental College 1991, 32 : 1-7
26. 이승렬, 정종평, 최상묵, 배기환 : 천연물추출물의 치주병인균에 대한 항균효과 및 세포독성에 관한 연구. 대한치주과학회지 1992, 22 : 515-526.
27. 장범석, 손성희, 정종평, 배기환 : Magnolol 과 Honokiol이 항균, 교원질분해효소, 세포독성 및 cytokine 생산에 미치는 영향. 대한치주학회지 1993, 23 : 145-158
28. 양창호, 이용무, 조기영, 배기환, 정종평 : 대조추출물이 치은섬유아세포의 생물학적 활성화에 미치는 영향. 대한치주과학회지 1994, 24 : 144-154.
29. 양창호, 류인철, 최상묵, 정종평 : 치은섬유아세포와 치주인대세포의 형태와 화학주성에 미치는 대조추출물의 효과에 관한 연구. 대한치주학회지 1995, 25 : 279-289
30. 조기영, 이용무, 최상묵, 정종평 : 생약추출물이 IL-1β의 생성 및 활성에 미치는 영향. 대한치주학회지 1995, 25 : 386-396.
31. Chung CP, Park JB, Bae KH : Pharmacological effects of methanolic extract from the root of Scutellaria baicalensis and its flavonoids on human gingival fibroblast. Planta Med 61:150-153, 1995.
32. Mosmann T : Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival : Application to proliferation and cytotoxicity assays. J Immunol Methods 1983, 65 : 55-63.
33. Richards D, Rutherford RB : The effects of interleukin-1 on collagenolytic activity and prostaglandin-E secretion by human periodontal ligament and gingival fibroblast. Arch Oral Biol 1988, 33 : 237.
34. Alexander MB, Damoulis PD : The roles of cytokines in the pathogenesis of periodontal disease. Curr Opin Periodontol 1994 : 39-53
35. Oates TW, Cohcran DL : Bone cell interactions and regulation by inflammatory mediators. Curr Opin Periodontol 1996 : 34-44

사진부도 설명

그림 1 음성대조군 2주 표본(×40)
골결손부가 결체조직으로 치유되고 있고, 결손부 변연에서 돌기상으로 신생골형성이 시작되고 있다(C : 결체조직, NB : 신생골, OB : 기존골).

그림 2 1군 : 양성대조군 (옥수수 불검화추출물 0.1g/kg투여군)의 2주 표본(×40)
결손부 양측에서 중앙을 향해 약간의 신생골이 나타나고 있다(C : 결체조직, NB : 신생골).

그림 3 2군 : 양성대조군(옥수수 불검화추출물 0.5g/kg 투여군)의 2주 표본(×40)
결손부 양측에서 중앙을 향해 신생골이 성장하고 있다(C : 결체조직, NB : 신생골, OB : 기존골).

그림 4 3군 : 실험군(후박 및 대조추출혼합물 0.1g/kg 투여군)의 2주 표본(×40)
결손부 양측에서 중앙을 향해 신생골이 성장하고 있다(C : 결체조직, NB : 신생골)

그림 5 4군 : 실험군(후박 및 대조추출혼합물 0.5g/kg 투여군)의 2주 표본(×40)
골결손부의 결체조직이 신생골 및 골양조직으로 거의 대체되어, 골유합이 이루어져 가고 있다(NB : 신생골, OB : 기존골).

그림 6 음성대조군 3주 표본(×40)
결손부 양측 변연에서 중앙을 향해 신생골이 성장하고 있고, 결손부 중앙에는 결체조직이 남아있다(C : 결체조직, NB : 신생골, OB : 기존골).

그림 7 1군 : 양성대조군(옥수수 불검화추출물 0.1g/kg투여군)의 3주 표본(×40)
결손부 양측 변연에서 신생골형성이 관찰되고 있고, 결손부 중앙은 결체조직이 남아 있다(C : 결체조직, NB : 신생골, OB : 기존골).

그림 8 2군 : 양성대조군(옥수수 불검화추출물 0.5g/kg 투여군)의 3주 표본(×40)
결손부 중앙부까지 신생골 및 골양조직이 나타난다(C : 결체조직, NB : 신생골, OB : 기존골).

그림 9 3군 : 실험군(후박 및 대조추출 혼합물 0.1g/kg 투여군)의 3주 표본(×40)
결손부 양측단이 신생골 및 골양조직으로 유합되어 연결되고 있다(NB : 신생골, OB : 기존골).

그림 10 4군 : 실험군 (후박 및 대조추출혼합물 0.5g/kg 투여군)의 3주 표본(×40)
결손부 양측단이 신생골로 연결되어 거의 완전한 골재생을 보인다(NB: 신생골, OB: 기존골).

사진부도 (I)

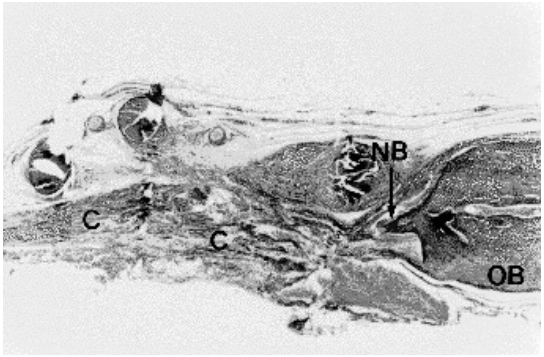


그림 1

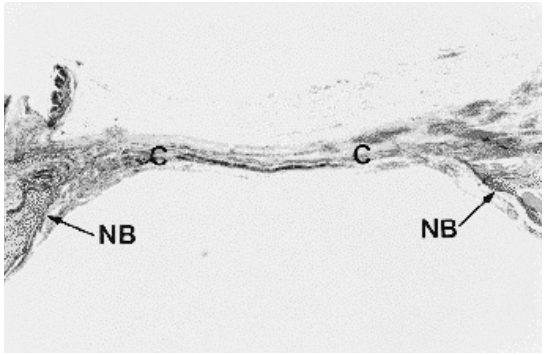


그림 2

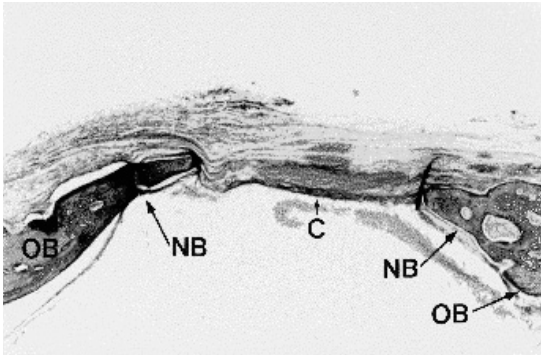


그림 3

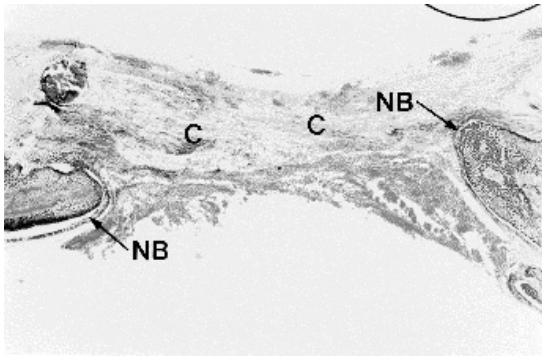


그림 4

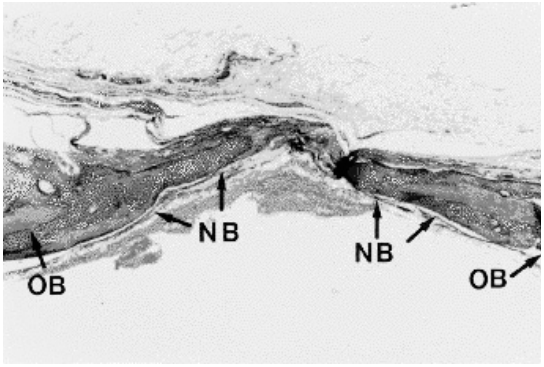


그림 5

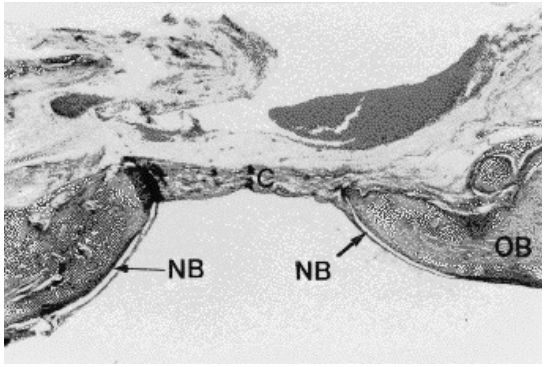
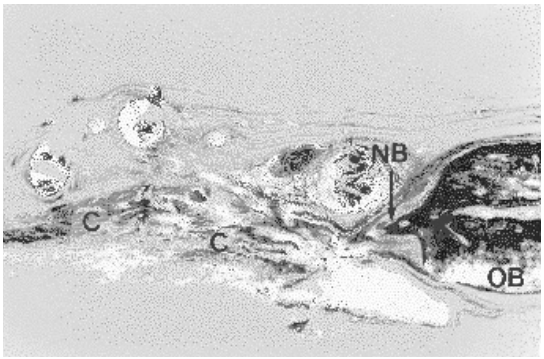
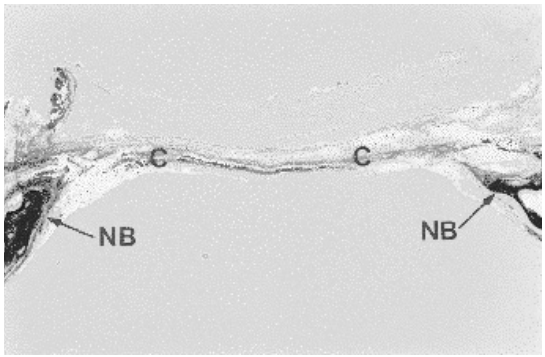
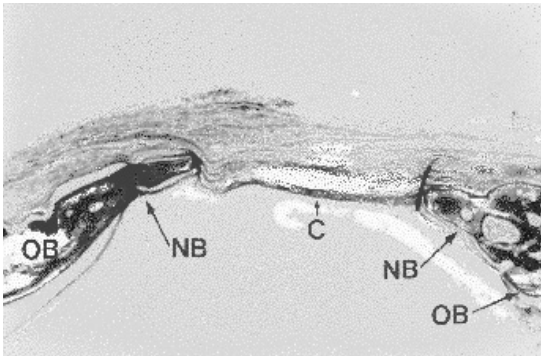
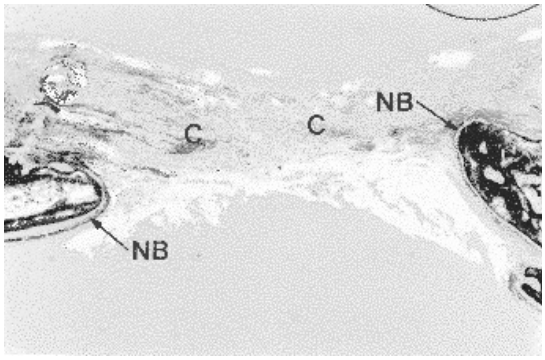


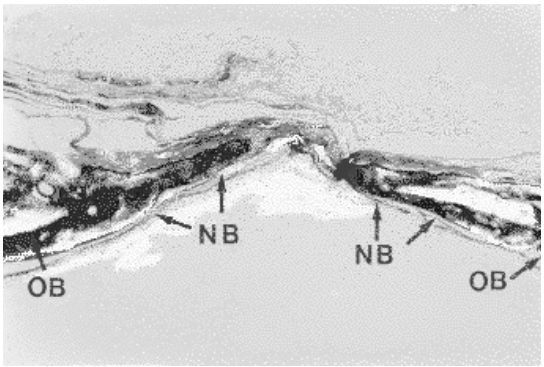
그림 6

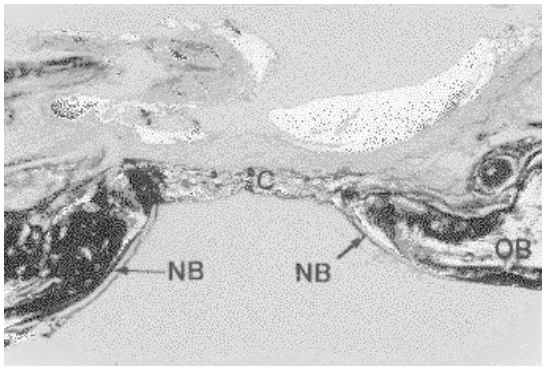

NB
C
C
OB

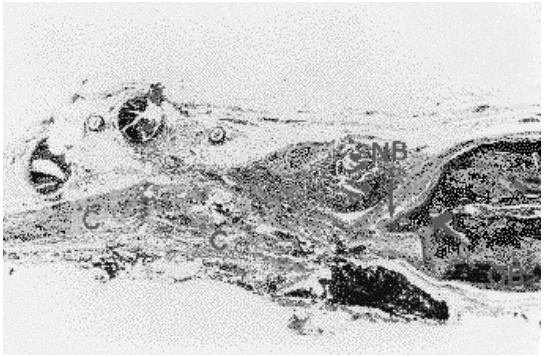

C
C
NB
NB

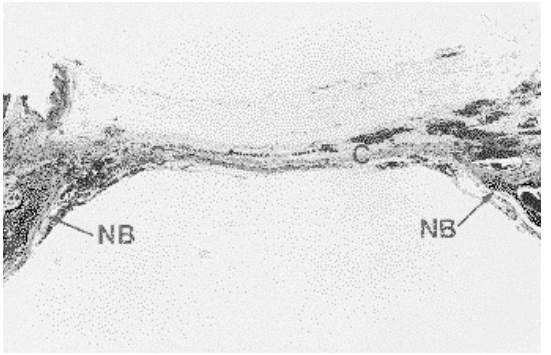

OB
NB
C
NB
OB

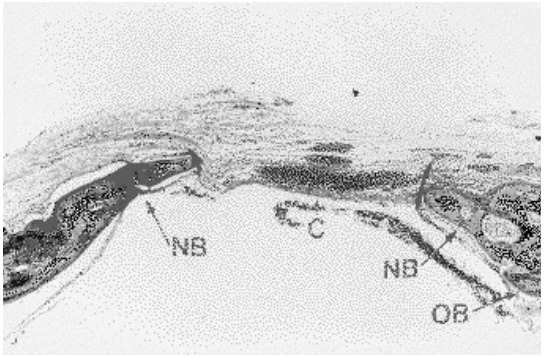

NB
C
C
NB

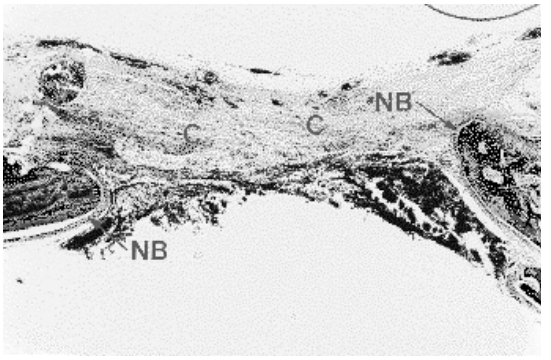

NB
NB
OB
OB

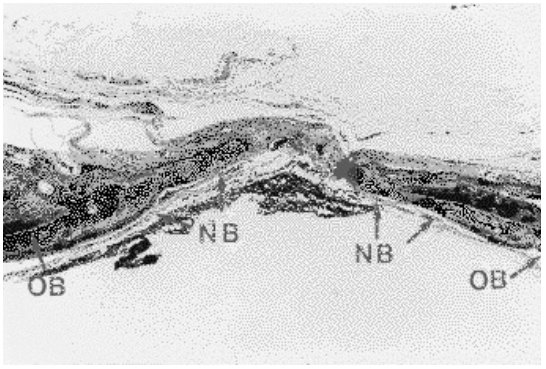

C
NB
NB
OB

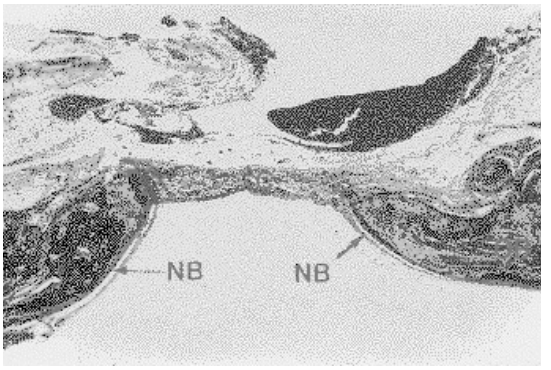

NB
C
C
OB

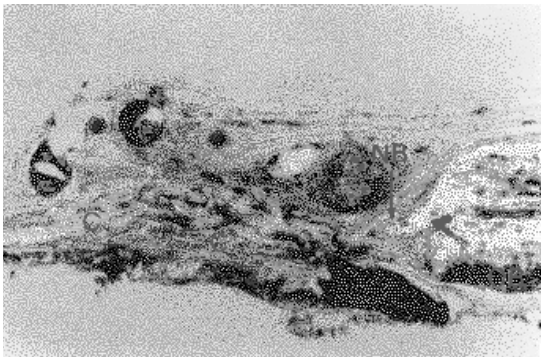

C
NB
NB

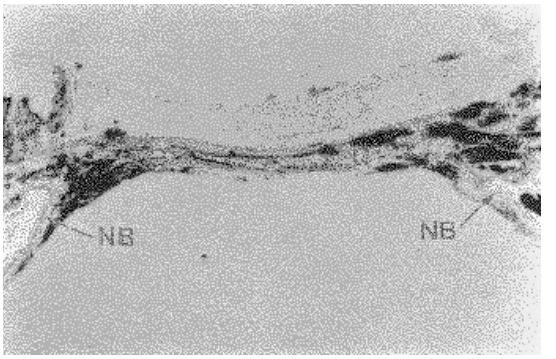

NB
C
NB
OB

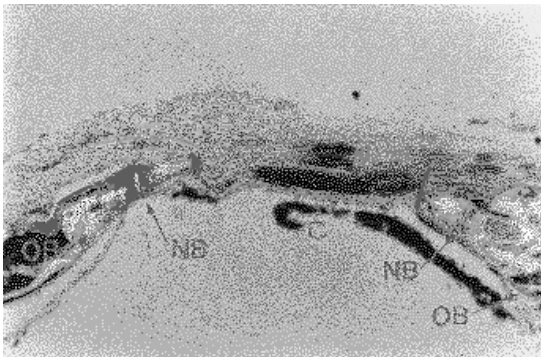

C
C
NB
NB

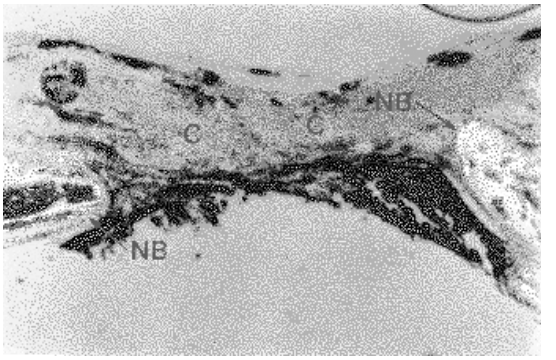

NB
NB
OB
OB

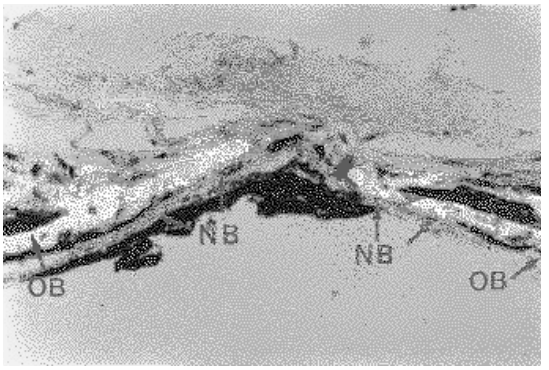

NB
NB

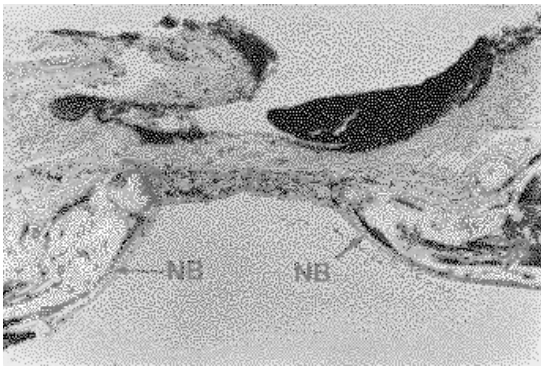

NB
C


NB
NB


OB
NB
C
NB
OB


C
C
NB
NB


OB
NB
NB
OB


NB
NB

사진부도 (II)

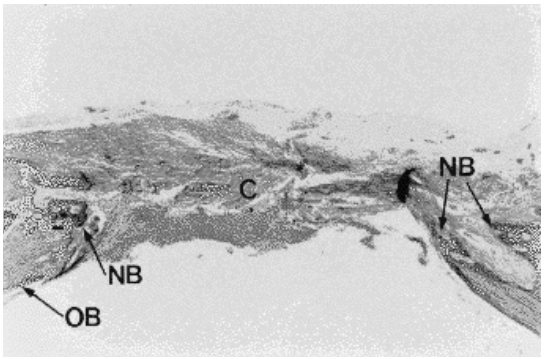


그림 7

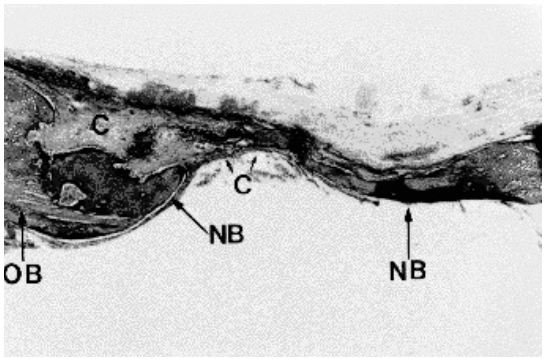


그림 8

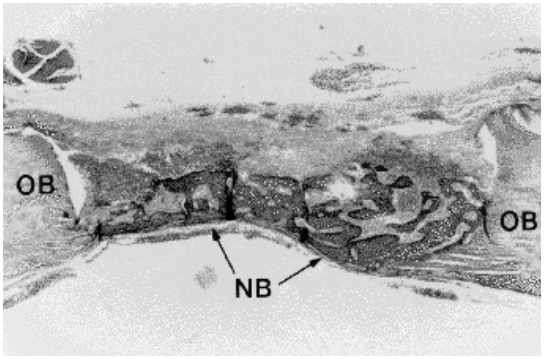


그림 9

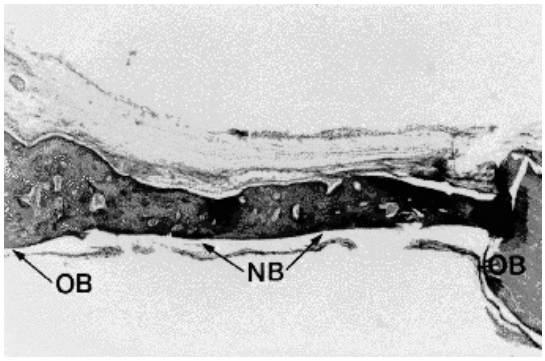
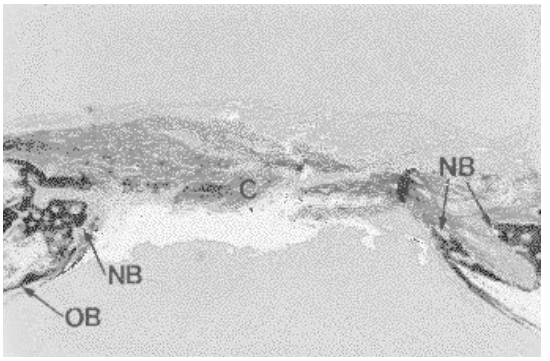
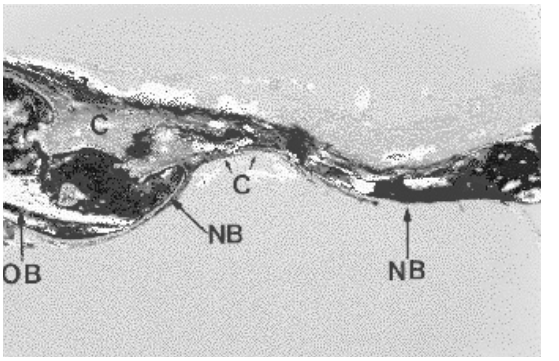
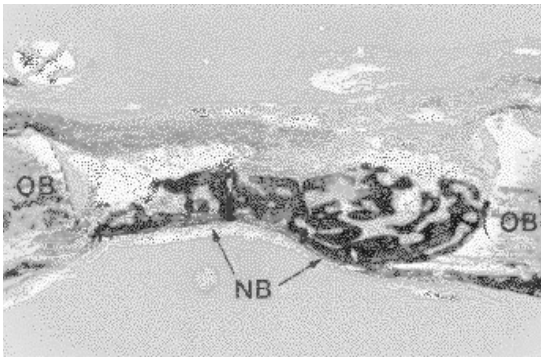
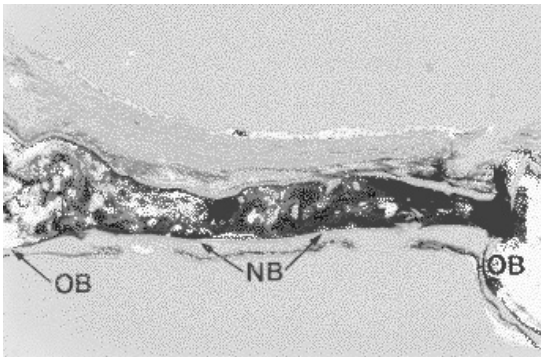


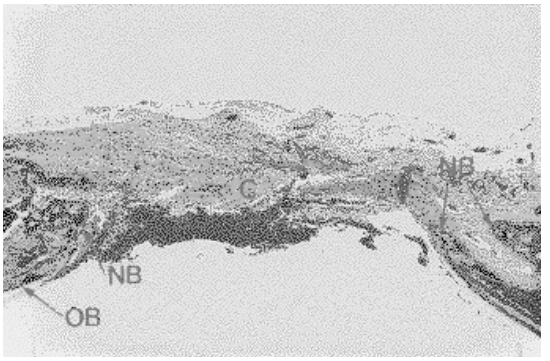
그림 10

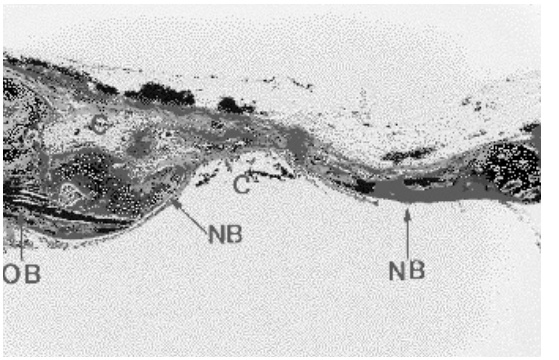

C
NB
NB
OB

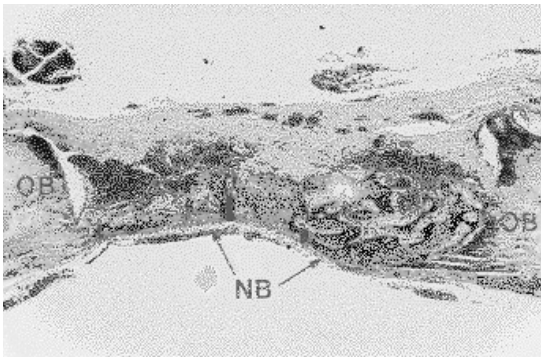

C
C
NB
OB
NB

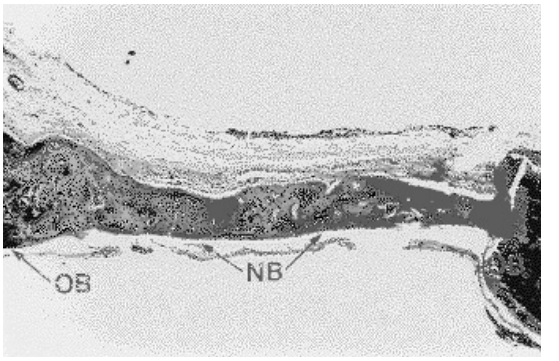

OB
OB
NB

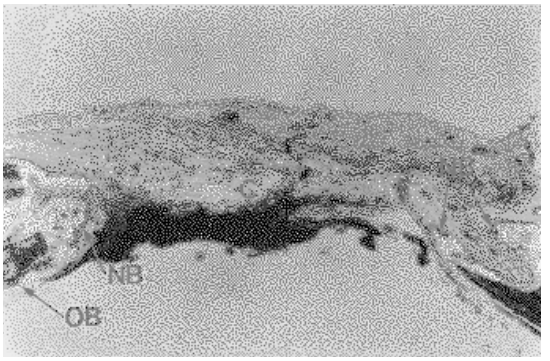

OB
NB
OB

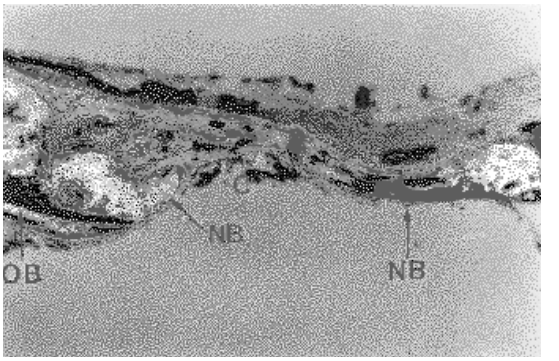

C
NB
NB
OB

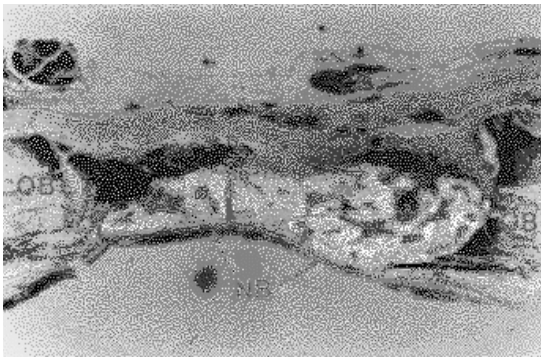

C
C
NB
OB
NB

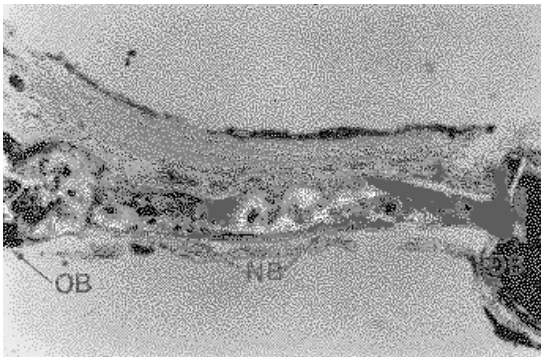

OB
OB
NB


OB
NB


NB
OB


NB
OB
NB


OB
NB


OB
NB

Tissue regenerative activity of Magnolia and Zizyphi fructus extract mixtures

Yong-Moo Lee*, Young Ku*, Ki-Hwan Bae**, and Chong-Pyoung Chung*
*Department of Periodontology, College of Dentistry, Seoul National University and Dental Research Institute
**College of Pharmacy, ChungNam National University

The purpose of this study was to perform on the biological activity of Magnolia and Zizyphi fructus extract mixtures on the wound healing of defected rat calvaria. For the determination of the mixture ratio of two extracts for oral administration, preliminary experiments were performed with the mixture combination of 2000 and 3000㎍/ml of Magnolia extract, and also 20, 30, 200, 300, 2000 and 3000㎍/ml of Zizyphi fructus extract, respectively and divided into 6 groups. The combination of extracts mixture were tested on the enhancing effect of cellular activity. The effect of the extracts mixture on the cellular activity was evaluated using MTT method and measured on the results with optical density by ELISA reader. The ability to tissue regeneration of the extracts mixture was performed by measuring new bone and new connective tissue regeneration on the 5mm defected rat calvaria for 1, 2 and 3 weeks after oral administration of 2 different dosages groups : 10:1(0.1g/kg) and 10:1(0.5g/kg). It was employed the same dosages of unsaponifiable fraction of Zea Mays L as positive controls. Each group of rat was sacrificed and en bloc section for histological examination. The effect on the cellular activity of each mixture ratio showed significantly higher in 2000㎍/ml of Magnolia extract and 200㎍/ml of Zizyphi fructus extract group to compare with other groups. These preliminary results showed that appropriate mixture ratio of two extracts was 10:1 of Magnolia and Zizyphi fructus extract. Histological examination on the activity of tissue regeneration of each group showed that 2weeks and 3weeks specimens of 0.5g/kg of 10:1 extract mixture of Magnolia and Ziziphi fructus administrated rat calvaria revealed significantly more osteoid and new bone formation of defected calvaria with unification of defected area than the specimens of any other negative and positive controls. Even though the specimen administrated the same dosages of unsaponifiable fraction of Zea Mays L, positive controls, showed the trend that they promote significantly the repair of calvarial defect, their bone reparative activities were less inductive than the same dosages of Magnolia and Ziziphi fructus extract mixture.

These results implicated that the mixture of Magnolia and Zizyphi fructus extracts should be highly effective on the wound healing of bony defected site and might have potential possibilities as an useful drug to promote periodontal tissue regeneration.

Key Words : extract mixture, Magnolia, Ziziphi fructus ; cellular activity; new bone formation ; periodontal tissue regeneruation