

천연추출물 Curcuma xanthorrhiza oil 함유치약의 치태 및 치은염 억제효과

홍지연^{1,2} · 김상년⁴ · 하원호⁴ · 장석윤⁴ · 장인권^{1,2} · 박지은^{1,2}
정성원^{1,2} · 엄유정^{1,2} · 최성호^{1,2,3} · 김종관^{1,2,3}

¹연세대학교 치과대학 치주과학교실, ²치주조직 재생연구소
³BK21 의과학 사업단, ⁴LG 생활건강 R&D Park, 대전

I. 서론

치은염의 주요한 원인은 치태의 침착으로, 그 심도는 치태세균의 양과도 비례한다고 알려져 있다. 치은의 발적, 부종, 종창, 출혈 등은 치은염의 주된 증상이며, 치은열구액의 증가가 동반되기도 한다.^{1~3)} 1976년 Page와 Schroeder는 치은과 치주조직의 염증 단계를 조직병리학적으로 구분하여, 진행 시기에 따라 초기, 조기, 확립기, 진행기로 분류하였다. 초기, 조기, 확립기는 치은염의 범주에 속하며, 초기 병변기부터 교원질의 흡수는 진행된다고 하였는데, 치은염이 진행됨에 따라 치태 세균의 양과 구성 또한 다양해짐을 보고한 바 있다.^{4,5)}

치은염에서 염증의 진행은 치태세균의 직접적인 작용에 의한 혈관확장 및 세균의 구성성분과 중성구의 상호작용에 의한 간접적인 작용에 의존한다. 상호작용은 보체활성화, 키닌시스템(kinin system), 아라키도닉 산 경로(arachidonic acid pathway) 등의 개체면역체계 활성을 유도하며, 이러한 직접적, 간접

적 경로를 통해 병변이 진행되면 접합상피 증식, 치은열구액의 증가와 더불어 교원질 섬유의 파괴가 심화되는 것이다.^{4~8)}

치주질환의 진행 및 조직파괴에 관련된 중요한 요소에는 cytokine, collagenase, prostaglandin 등이 있다. Cytokine 중에서 interleukin-1β (IL-1β)는 치은연상 혹은 치은연하 치주낭에 존재하는 치주질환 원인균과 개체세포의 상호작용에 의해 생성되며, 조직파괴효소인 matrix metalloproteinase의 형성을 촉진하여 결합조직 파괴 및 골 흡수를 일으킨다.^{9~16)}

위와 같은 치은염과 치태의 상호 관계에도 불구하고 치은은 치태의 제거에 따라 다시 건강한 상태로 돌아갈 수 있는 가역성이 있다. 그러므로 질환의 예방 및 치주 처치 전후의 치주조직 건강 유지를 위해 세균성 치태의 제거는 필수적이다.^{1,2,7-21)} 가장 기본적인 기계적 치태 조절법은 칫솔질이며, 그 외 보조적인 방법으로 치간칫솔, 치실, 나무 자극기, 수압 청정기 등이 사용되고 있다.^{17,22~24)} 기계적인 치태

*교신저자 : 김종관, 서울특별시 서대문구 신촌동 134 연세대학교 치과대학 치주과학교실, 우편번호 : 120-752

조절법은 효과적이지만 개개인의 구강 위생 정도와 능력에 따라 차이가 클 수 있기 때문에 그 효과를 높이기 위한 보조제로써 화학적 치태조절에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다.^{25,26)} 특히 치약은 칫솔질의 효과를 강화시키는 기본적인 재료로 사용된다. 그러나 Addy 등은 일반 치약만 사용할 경우 치아 표면의 치태 성장 감소에는 효과적이나 치은 변연에서의 치태 성장은 감소시키지 못하며, 치약 구성 성분에 다양한 약제를 첨가하는 것이 필요함을 주장하였다.²⁷⁻³⁰⁾ 항치태 및 항균효과를 나타내는 화학적 제제로는 항생제, 효소, bisbiguanide인 클로르헥시딘(chlorhexidine), 과산화물, 트리클로산(triclosan)과 같은 페놀류, 금속염, 계면활성제, 불소, 당대체물 등이 보고 되었으며, 이러한 물질들은 치약이나 구강 세척액, chewing gum 등에 함유되어 사용되고 있다.³¹⁻³⁶⁾

치약에 함유된 물질 중 단독으로는 우수한 항균력을 가지고 있으나 장시간 사용 시 구강내 생태파괴, 유효농도유지실패, 치아착색 혹은 다른 성분과의 작용에 의한 효과 감소 및 안전성의 문제를 나타내는 것들이 많다.²⁹⁾ 이러한 문제의 보완책으로 내성균주의 형성과 부작용 없이 지속적으로 사용할 수 있는 천연 물질의 추출이 연구되고 있다. Thymol, Sanguinaria³⁷⁾, herbal 추출물³⁸⁻⁴⁰⁾, 녹차 추출액과 솔잎 추출액⁴¹⁾, 한방 재료로 금은화와 포공영 추출물⁴²⁾ 후박 추출액⁴³⁾, 키토산⁴⁴⁾ 등을 함유한 치약의 효능에 대한 연구가 보고 되고 있으며, 항생효과, 항진균효과, 항암효과, 결합조직 보호 및 조직 치유 효과 등에 대한 천연추출물의 관심이 증가되고 있다.

천연물질인 Curcuma xanthorrhiza는 생강과(Zingiberaceae) 식물의 일종으로 인도네시아의 전통 약용식물로 알려져 있으며 뿌리부분에 함유되어 있는 잔토리졸(xanthorrhizol, 1,3,5,10-bisabolatetraen-3-ol)은 sesquiterpenoid 계열의 화합물로서 1970년 독일의 Rimpler 등에 의해서 처음 분리되었다.^{45,46)} Curcuma xanthorrhiza의 약리활성으로는 항암효

과^{47,48)}, triglyceride 감소효과⁴⁹⁾, 간 보호효과(hepatoprotective effect)⁵⁰⁾, 신독성(nephrotoxicity) 감소 효과⁵¹⁾, 항염작용⁵²⁻⁵⁵⁾, 항전이(anti-metastasis) 작용⁵⁶⁾ 등이 보고 되었다. 또한 Hwang 등^{57,58)}은 Curcuma xanthorrhiza의 구강균주에 대한 탁월한 억제효과를 발표하였는데, 추출물 중에서 잔토리졸이 항균을 나타내는 주된 활성성분임을 규명하고, 잔토리졸의 치아 우식증 관련 균주인 *S. mutans*에 대한 최소성장억제농도(Minimum Inhibitory Concentration : MIC)가 chlorhexidine과 비교하여 유사한 농도로 나타난다고 하였다.^{57,58)}

본 연구의 목적은 Curcuma xanthorrhiza oil의 콜라겐 파괴 억제 및 항염작용을 확인하고 임상적으로 치태형성 및 치은염 억제효과를 관찰하는데 있으며, 이를 위하여 먼저 시험관 실험을 시행하였다. Curcuma xanthorrhiza oil 이 interleukin-1 β 및 *Porphyromonas gingivalis*가 처리된 치주인대세포에서 matrix metalloproteinase-2(MMP-2)의 발현과 type IV collagen 파괴 억제에 미치는 효과를 살펴보고, 이러한 효과에 대해 구강 위생제로 실제 임상적 응용이 가능한지를 타진해 보기 위해, Curcuma xanthorrhiza oil 함유 치약이 치태와 치은염 억제에 미치는 효과를 관찰하고자 한다.

II. 연구재료 및 방법

1. 연구재료 - Curcuma xanthorrhiza oil

유럽 약전에 등재 된 Turmeric, Javanese (Curcuma xanthorrhizae rhizome 7)인 Curcuma xanthorrhiza의 건조된 뿌리를 분말화 하고, n-헥산을 첨가하여 상온에서 24시간 추출한 후 여과하였다. 여과한 추출원액을 감압농축하고 n-헥산과 에칠아세테이트 혼합액(100:1)을 전개용매로 하여 액상의 Curcuma xanthorrhiza oil을 얻어 사용하였다.

2. 연구방법

가. 시험관실험(In vitro study)

1-1. Bacterial culture

Porphyromonas gingivalis(ATCC 53978)를 hemin(5 g/ml), menadion(0.5 g/ml)이 함유된 brain heart infusion broth에서 농도가 O.D. 660 0.6~0.7이 되도록 배양한 뒤 원심분리(10,000 x g, 10 min)하여 추출한 상등액을 0.2 µm 멤브레인 필터를 거쳐 멸균하고 -80°C 에 사용 시까지 보관하였다.

1-2. 치주 인대 세포 배양(Cultures of Periodontal Ligament(PDL) cells)

교정치료를 위해 발거된 소구치를 FBS(Fetal bovine serum, Gibco Co.,USA) 10%, 항생제(Penicillin G 100 µg/ml, streptomycin 0.25µg/ml, amphotericin 25 µg/ml)가 첨가된 α-minimal-essential medium(MEM)이 들어 있는 100mm 접시에 옮겨 큐렛으로 치근 중간 1/3부위의 치주인대 조직을 떼어낸 후 잘게 세절하였다. 이들 세절 조직을 25 mm² tissue culture flasks에 넣고 20% heat-inactivated FBS와 상기 항생제가 들어 있는 α-MEM 배지로 배양하였다(37°C in 5% CO₂). 치주 인대 세포의 단층 밀생이 형성된 후 배양액을 제거하고 2회 세척 후 0.24% Trypsin/EDTA를 이용 하여 세포를 분리 한 후 1:3~1:4의 비율로 계대배양하였다.

1-3. Curcuma xanthorrhiza oil 의 Type IV Collagenase/72-kDa gelatinase(MMP-2) 발현 억제 효과

본 실험에서는 4~8회 계대배양 한 치주 인대 세포를 단층 밀생 형성하고, DMSO(Dimethyl Sulphoxide, Sigma, USA)에 준비된 Curcuma xanthorrhiza oil을 α-MEM 배지 내 농도가 0, 0.5, 2, 8, 20 µg/ml 되도록 처리한 뒤 1시간 후 *Porphyromonas gingivalis* 배양액을 15 µm/ml로 배지에 직접 투여하여 3일간 배양하였다. Curcuma xanthorrhiza oil

처리 농도 0.5, 2, 8, 20 µg/ml를 3회 반복 실험하여 얻어진 결과를 paired Student's t-test로 대조군과 유의수준 p<0.05 에서 비교하였다.

1-4. 젤라틴 자이모그래피(Gelatin zymography)

치주인대 세포 배양액 15µl 를 buffer [2.5% (w/v) SDS, 50 mM Tris HCl(pH 6.8), 0.005% bromophenol blue, 3% sucrose]와 1:1로 섞은 후 0.2% gelatin 함유 8% SDS-polyacrylamide gel에서 전기영동하였다. 분리 후 gel을 2.5% Triton X-100 및 50 mM Tris-HCl(pH 7.5) 용액에서 서서히 교반하여 30분씩 2회 세척한 뒤 반응 buffer [50mM Tris-HCl(pH 7.5), 10mM CaCl₂, 150mM NaCl]상에서 37°C에 18시간 반응시켰다. Gel을 0.05% Coomassie brilliant blue R-250 (10% isopropyl alcohol 및 10% acetic acid)으로 염색하고 염색 용액 중 Coomassie blue가 제거된 용액으로 stain 제거를 하였다. 젤라틴이 분해된 밴드는 투명하게 나오며 이 밴드의 강도를 이미지분석기(BIORAD Multiimager)를 통해 정량하였다.

1-5. 단핵 세포 분리 배양

전신질환이 없는 건강한 성인에서 채집한 정맥혈로부터 Histopaque-1077(Sigma, USA)을 이용한 밀도차 원침법으로 단핵세포를 분리한 후 phosphate buffer saline(PBS)으로 2-3회 세척하여 10% fetal bovine serum(FBS), 100 U/ml penicillin과 100 µg/ml streptomycin이 함유된 RPMI 1640(Gibco, USA)에서 95% 공기, 5% 산소 하에 무균적으로 배양하였다.

1-6. 혈액 단핵세포에서 Curcuma xanthorrhiza oil 이 IL-1β 생성에 미치는 영향

배양된 혈액 단핵 세포를 24 well plate에 10⁶ cell/well로 분주하여 DMSO만 첨가한 RPMI 1640 배지를 대조군으로 하고 *E. coli*의 lipopolysaccharide(LPS, 25µg/ml)를 첨가한 well과 LPS(25µg/ml)+DMSO 에 Curcuma xanthorrhiza oil 을 배

Table 1. 실험치약과 대조치약의 구성성분과 배합비율

구분	구성성분	실험치약	대조치약
세마제	텐탈 타입 실리카	20.0%	20.0%
주성분	불화나트륨	0.22%	0.22%
	Curcuma xanthorrhiza oil (쿠르크마 잔토리자 유)*	0.025%	-
기타성분	비결정성소르비톨액	적량	적량
	착향제, 산탄검, 정제수 등	적량	적량

* Curcuma xanthorrhiza oil : 잔토리줄 40% 함량

지 내 농도 0, 0.02, 0.1, 0.5, 2, 8, 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 가 되도록 처리 한 well을 실험군으로 하여 48시간 배양하였다. 배양 후 각 세포 부유액을 모아 $400 \times \text{g}$ 로 10분간 원심시키고 상등액을 모아 측정 전까지 -80°C 에 동결보관하였다. 생산된 IL-1 β 의 양은 enzyme immunoassay system(Amersham UK)을 이용하여 측정하고 ELISA reader로 450nm에서 비색 정량하였다. Curcuma xanthorrhiza oil 처리 농도 0.02, 0.1, 0.5, 2, 8, 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 를 3회 반복 실험하여 얻어진 결과를 paired

Student's t-test로 대조군과 유의수준 $p < 0.05$ 에서 비교하였다.

나. 임상실험

1-1. 연구대상

연세대학교치과대학 병원 근무자 중 자발적으로 실험에 참여한 사람에서 건강한 치은 혹은 치은염을 나타내는 대상 중 자연치가 20개 이상이고 치주낭 깊이가 3mm 이상인 치아가 없는 사람을 무작위로 선택하였다. 총 65명의 지원자가 모집되었으며, 33명은 Curcuma xanthorrhiza oil이 함유된 치약을 사용한 실험군으로, 32명은 일반치약을 사용한 대조군으로 각각 분류하였다.

연구대상은 전신적으로 건강하며 특이한 전신적

질환이 없었고, 실험 결과에 영향을 미칠 만한 약물(예: 항생제)을 최근 12개월 이내 복용하지 않았으며, 구강 내 조건으로는 교정치료 중이거나 심한 부정교합을 가지고 있지 않고 잘못 형성된 수복물 등에 의한 조직 손상이 없는 상태였다.

1-2. 연구방법

① 실험군 설정

총 65명을 각각 대조군 32명, 실험군 33명으로 나누어 실시하였으나, 실험 과정 중 4명(대조군 2명, 실험군 2명)이 누락되어 대조군 30명, 실험군 31명의 총 61명을 각각 조사하였다.

② 실험재료

실험군은 Curcuma xanthorrhiza oil 이 함유된 치약을 사용하였고 대조군은 일반치약을 사용하였다.

치솔질 시 두 군 모두 앙고라치솔(LG Co.)을 사용하였다.

1-3. 평가방법

① 환자 선별 및 shield의 제작

환자의 전신병력, 구강 검사를 통해 연구대상의 조건에 맞는 사람들을 무작위로 선택하고 하악의 좌

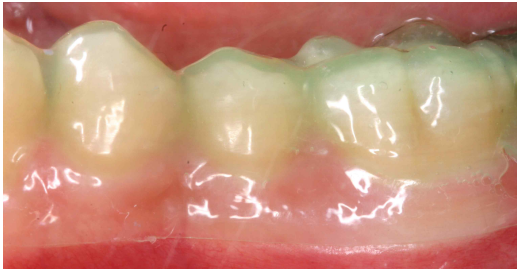


Figure 1. 하악 좌측에 치약을 넣은 채 shield를 장착한 모습

* 측정할 임상지수

i) 치은지수 - Löe & Silness gingival index(GI)

치아의 4개면(협면 변연부, 원심협면, 근심협면, 설면)을 기록

0 : 정상치은

1 : 경한 염증 - 경미한 색조변화, 가벼운 부종, 치주탐침에 의한 출혈성향이 없는 경우

2 : 중증 염증 - 발적, 부종, 치은의 색조변화, 치주탐침에 의한 출혈이 있을 경우

3 : 심한 염증 - 상당한 발적과 부종, 궤양이 있으며, 계속적인 출혈이 있을 경우

ii) 치태지수 - Silness & Löe plaque index(PI)

치아의 4개면(협면 변연부, 원심협면, 근심협면, 설면)을 기록

0 : 치은에 치태가 나타나지 않을 때

1 : 유리치은의 변연부나 치아 인접면상에 얇은 층의 치태가 있으나 치아면을 긁어 보아야 인지될 정도인 경우

2 : 치은낭과 치은염 및 인접치아 표면에 눈으로 관찰될 수 있는 정도의 침착물이 있을 때

3 : 변연치은이나 치주낭 혹은 치아표면에 많은 침착물이 있을 때

iii) 출혈지수 - Bleeding on probing(BOP)

치아의 6면에서 기록하고 탐침 후 10초 후에 출혈이 있는 경우는 1로 기록하였고, 그렇지 않은 경우는 0으로 하였다.

측 혹은 우측의 한 사분악(quadrant)을 임의로 선정하여 알지네이트 인상을 채득한 후 shield를 제작하였다. Shield가 장착될 부위는 치아의 상실이나 우식 등에 의한 치질의 파괴가 심하게 일어난 경우 실험에서 제외되었다. 석고모델 상에서 치관의 순, 설면, 인접면 및 치경부를 spacer로 처리한 후, thermoplastic mouthguard 재료로 shield를 제작하였다. 여기서 spacer 처리는 치면과 치은변연에 치약이 위치될 공간을 확보하면서 장착의 편의성을 위하여 시행하였다. Shield의 변연은 치은변연 2mm 하방까지 위치하고, 근심으로는 중절치의 중간부위에서부터 제 2대구치의 원심면까지 한 사분악(quadrant)만 덮도록 다듬었다.

② 초진

초진 시 우선 각 임상지수의 baseline 검사를 시

행하였다. 하악의 전 치아를 대상으로 하였고, bleeding on probing(BOP)은 6개면, 나머지 지수는 4개면에 대하여 기록하였다. 임상지수는 Löe & Silness gingival index, Silness & Löe plaque index, Bleeding on probing 순으로 측정하였다.

이후 치석 제거술(Scaling:Sc) 및 구강위생교육(Tooth brush instruction:TBI)를 시행하였는데, 칫솔질은 치약을 넣은 shield를 장착한 채 하루 2회, Modified Bass method로 시행하도록 하였다. Shield에 1.5g의 치약을 채운 뒤 먼저 장착하고(Figure 1), 동일 치약 1.5g을 칫솔에 묻혀 다른 부위를 1분간 칫솔질 한 후, 입안을 완전히 헹구어 내고 shield를 제거하며, 장착 부위에 남은 치약은 15ml의 물로 10초간 헹구어내도록 하였다. 양치액, 치실, 치간 칫솔, 수압 청정기 등 보조적인 구강위생용품의 사용은 하지 않도록 하였다.

Table 2. Study design

	baseline	3weeks
GI	*	*
PI	*	*
BOP	*	*

③ 재내원
초진 3주 후 내원 시 위와 같은 임상지수를 다시 측정하였다.

1-4. 통계분석

실험군과 대조군 사이의 임상지수에서 각 shield 및 no shield 부위에 있어 baseline 과 3주 사이의 비교는 Wilcoxon signed rank를 사용하였다. 또한 각 baseline 및 3주에 있어 shield를 장착한 부위와 안 한 부위 사이의 비교에는 Mann Whitney 분석을 사용하였고 대조군, 실험군 사이의 비교는 Kruskal-Wallis를 사용하였다.

III. 연구결과

1. 시험관실험결과

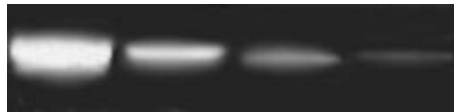
1) Curcuma xanthorrhiza oil에 의한 MMP-2 발현 억제 효과

자이모그래피 결과 *Porphyromonas gingivalis*

배양액이 처리된 치주인대 세포배양 상등액에서 72kDa 크기의 젤라틴 분해 역가 밴드가 확인되었으며, 이것의 활성화 된 62kDa 밴드가 약하게 보임에 따라 분자량에 의거하여 MMP-2가 발현되는 것을 알 수 있었다. 표 3 에서 보듯이 Curcuma xanthorrhiza oil 이 0.5, 2, 8, 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 로 처리된 군에서는 대조군과 비교하여 농도 의존적인 MMP-2의 생산억제를 보였으며 억제 효과는 각각 평균 60, 80, 95%로 처리군에서 통계적으로 유의한 억제율을 나타내었다(Table 3, Figure 2).

2) 혈액 단핵세포에서 Curcuma xanthorrhiza oil 이 IL-1 β 생성에 미치는 영향

혈액 단핵세포에 대한 LPS 자극 시 Curcuma xanthorrhiza oil의 IL-1 β 생성억제효과를 실험한 결과 0.02, 0.1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 이상인 0.5, 2, 8, 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 처리군에서는 대조군과 비교하여 농도 의존적인 IL-1 β 의 생산억제를 보였으며 억제 효과는 각각 평균 5, 8, 38, 42, 80, 88%로 나타났다(Figure 3).



농도 ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	DMSO	2	8	20
억제효과 (%)		60	80	95

Table 3. Curcuma xanthorrhiza oil에 의한 MMP-2 발현 억제 효과

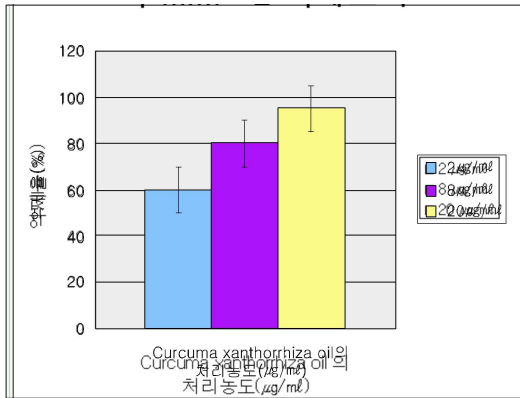


Figure 2. Curcuma xanthorrhiza oil의 MMP-2 억제효과

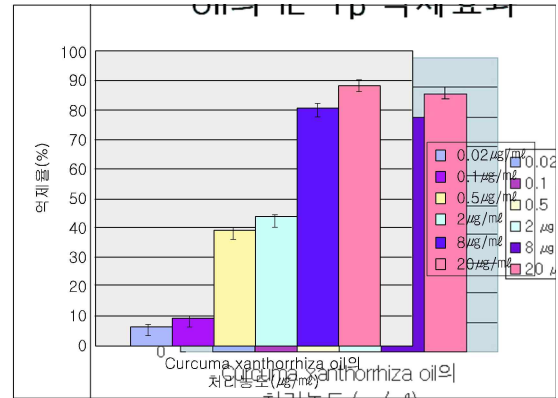


Figure 3. Curcuma xanthorrhiza oil 의 IL-1β 억제효과

2. 임상실험 결과

1) 치은지수(Gingival index ; GI)

Shield를 장착한 부위에서 baseline과 3주 후의 치은지수를 비교하면 대조군에서는 유의성 있는 증가가 나타난 반면, 실험군에서는 유의성 있는 차이가 나타나지 않았다. Shield를 장착하지 않은 부위에서는 baseline과 3주 사이에 실험군, 대조군 모두 큰 차이를 나타내지 않았다. 3주 후의 결과에서 shield를 장착한 부위와 장착하지 않은 부위를 비교해 보면 대조군에서는 장착하지 않은 부위에서 유의한 치은지수의 증가가 나타난 반면, 실험군에서는

큰 차이가 보이지 않았다. 또한 3주 후 shield를 장착한 부위에서는 실험군이 대조군에 비하여 통계적으로 유의한 감소를 나타내었다.(Table 4, Figure 4)

2) 치태지수(Plaque index ; PI)

Baseline에 비하여 3주 후 결과를 비교해 보면 shield를 장착한 부위의 치태지수는 대조군, 실험군 모두에서 통계적으로 유의한 증가가 나타났으나, 장착하지 않은 부위에서는 별 차이가 없었다. Shield를 장착한 부위는 shield를 장착하지 않은 부위에 비해 3주 후 대조군, 실험군 모두에서 유의한 증가가 나타났고, 대조군과 실험군 사이에서 통계적으로 유의한 차이가 없었다.(Table 5, Figure 5)

Table 4. 치은지수(Gingival index ; GI)

	control group (n=30)		experimental group (n=31)	
	no shield	shield	no shield	shield
baseline	0.67±0.44	0.71±0.39	0.69±0.47	0.74±0.44
3weeks	0.55±0.23	0.94±0.48 ⁺⁺	0.57±0.33	0.73±0.38 ^f

* : Statistically significant from baseline at $p<0.05$

⁺ : Statistically significant from no shielded area at $p<0.05$

^f : Statistically significant from control at $p<0.05$

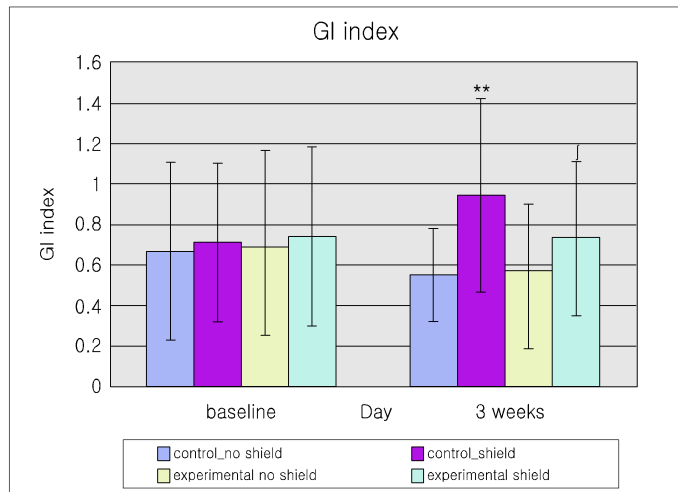


Table 4. 치은지수 (Gingival index ; GI)

* : Statistically significant from baseline at $p<0.05$

+ : Statistically significant from no shielded area at $p<0.05$

§ : Statistically significant from control at $p<0.05$

Table 5. 치태지수 (Plaque index ; PI)

	control group (n=30)		experimental group (n=31)	
	no shield	shield	no shield	shield
baseline	0.42±0.31	0.43±0.25	0.51±0.34	0.51±0.29
3weeks	0.40±0.20	0.76±0.30*+	0.48±0.29	0.71±0.34*+

* : Statistically significant from baseline at $p<0.05$

+ : Statistically significant from no shielded area at $p<0.05$

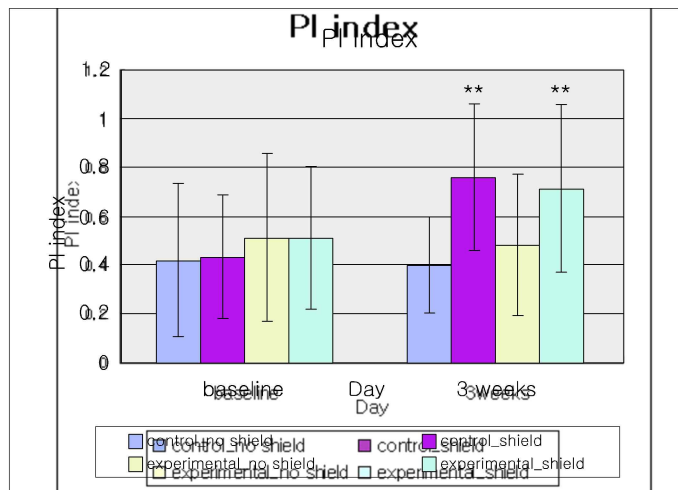


Table 5. 치태지수(Plaque index ; PI)

* : Statistically significant from baseline at $p<0.05$

+ : Statistically significant from no shielded area at $p<0.05$

Table 6. 출혈지수(Bleeding on probing ; BOP)

	control group (n=30)		experimental group (n=31)	
	no shield	shield	no shield	shield
baseline	0.24±0.26	0.30±0.23	0.29±0.25	0.31±0.26
3weeks	0.19±0.14	0.36±0.28 ⁺	0.15±0.16 [*]	0.25±0.22 ⁺

* : Statistically significant from baseline at $p<0.05$

⁺ : Statistically significant from no shielded area at $p<0.05$

3) 출혈지수

Baseline에 비하여 3주 후 결과에서 shield를 장착한 부위의 출혈지수는 대조군과 실험군 모두에서 별 차이가 없었고, shield를 장착하지 않은 부위는 실험군에서 유의할 만한 감소가 나타났으나 대조

군에서는 별 차이가 없었다. Shield를 장착한 부위는 장착하지 않은 부위에 비하여 3주 후, 대조군과 실험군 모두에서 유의할 만한 증가가 나타났고, 대조군과 실험군 사이에서 통계적으로 유의한 차이가 없었다(Table 6, Figure 6, 7, 8).

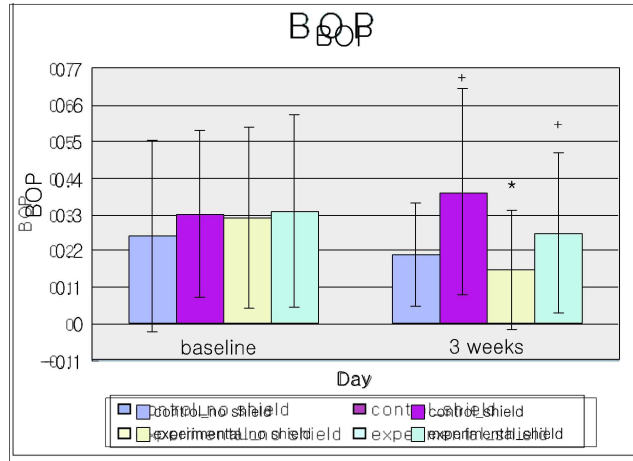


Table 6. 출혈지수(Bleeding of probing ; BOP)

* : Statistically significant from baseline at $p<0.05$

⁺ : Statistically significant from no shielded area at $p<0.05$



(a) 초진 시 scaling 후 모습



(b) 3주 후 검사 시 bleeding on probing 나타남.

Figure 7. Curcuma xanthorrhiza 비함유 치약군에서 shield 장착 부위



(a) 초진 시 scaling 후 모습



(b) 3주 후 검사 시 bleeding on probing 보이지 않음

Figure 8. *Curcuma xanthorrhiza* 함유 치약군에서 shield 장착 부위

IV. 총괄 및 고찰

본 연구는 천연추출물 *Curcuma xanthorrhiza*의 항염, 항균, 콜라겐 파괴 억제 작용을 알아보기 위하여 시험관실험 상에서 IL-1 β 와 matrix metalloproteinase(MMP-2)의 발현 억제에 미치는 영향을 관찰하였고, *Curcuma xanthorrhiza*가 초기 치은염 조절에 미치는 임상적 효과를 알아보기 위하여 치태지수, 치은지수, 탐침 시 출혈을 검사하였다.

치주 질환은 치은연하 치주낭에 존재하는 그람 음성 세균의 감염과 숙주의 과도한 염증 반응에 의해 진행된다. 반응 중 생성되는 염증 매개물질인 prostaglandin, IL-1 β 를 포함한 cytokine과 조직 파괴 효소인 matrix metalloproteinase(MMP)는 결합조직과 치조골의 파괴를 야기하며 질환의 만성적인 진행에 중요한 역할을 한다.^{8-16,59-61)} 세균과의 작용에 의한 개체의 염증성 반응이라는 특성을 고려할 때, 효과적인 질환의 억제 물질은 강력한 항균력, 항염효과, 콜라겐 및 조직 파괴 효소 억제 효과 등을 갖추어야 한다. 천연 추출물인 *Curcuma xanthorrhiza* oil은 이러한 효과 외에도 화합물이 나타내는 구강내 생체 파괴, 유효농도유지실패, 치아착색, 다른 성분과의 작용에 의한 효과 감소, 안전성의 문제 등을 적게 보인다는 점에서 활용 가능성에 대한 연구가 진행되었다.^{29,45-58)} Claeson 등^{52,53)}, Lee 등⁵⁴⁾은 염증과 암 발생 과정에 중요한 역할을 하는 물질 중 prostaglandin을 합성하는 효소인 cyclooxygenase-2와

nitric oxide synthase의 발현이 *Curcuma xanthorrhiza*에 의해 현저히 감소되는 등의 천연 염증 억제제로 우수한 효능을 보고한 바 있다. 또한 Hwang 등^{57,58)}은 치아우식증 관련 균주인 *S.mutans* 및 치주병원균인 *Porphyromonas gingivalis*, *Actinomyces viscosus*에 대한 최소성장억제농도(Minimum Inhibitory Concentration : MIC)에 있어 *Curcuma xanthorrhiza*가 chlorhexidine과 비슷한 정도의 항균효과를 나타낸다고 하였으며, 최근 Kim 등⁵¹⁾은 합성 항균제가 광범위한 항균력을 보이는데 반하여 *Curcuma xanthorrhiza*는 치아우식 관련 균주와 치주병원균에 선택적 항균효과를 보인다고 하였다. 본 연구에서는 시험관 실험을 통해 *Curcuma xanthorrhiza*가 치주 질환의 매개체로 알려져 있는 IL-1 β 에 대하여 매우 낮은 농도 범위(0.5, 2, 8, 20 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$)에서부터 억제하는 효과를 나타내며, 조직 파괴의 직접적인 원인 중 하나인 type IV collagenase(MMP-2)의 생성을 농도 의존적으로 억제(0.5, 2, 8, 20 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$)하고 있음을 관찰하였다. 이러한 결과를 통하여 *Curcuma xanthorrhiza*가 치주조직의 파괴, 질환의 진행 및 악화를 억제하는데 효과적으로 작용할 수 있음을 알게 되었다.

시험관 실험을 통해 얻은 *Curcuma xanthorrhiza*의 효과가 임상적으로도 유용한 지 알아보기 위해 이 물질이 혼합된 치약에서 나타나는 치태침착 및 치은염 억제효과를 조사하였다. 우선 baseline과 비교하여 3주 후 shield를 장착한 부위에서는 *Cur-*

cuma xanthorrhiza가 함유된 치약(실험군)과 함유되지 않은 치약(대조군) 모두에서 치태지수가 유의하게 증가하였다. 이는 Curcuma xanthorrhiza가 치태세균이나 염증 매개물질 등에는 작용할 수 있지만 치태의 생성 및 침착 억제에는 큰 효과가 없음을 보여준다. 치은지수의 비교에서 shield를 장착한 부위 중 대조군은 3주 후 유의할 만한 증가가 일어난 반면, 실험군은 baseline에 비해 큰 차이가 없었다. 또한, 대조군에서 shield를 장착한 부위는 장착하지 않은 부위에 비해 유의한 치은지수의 증가가 생긴데 반해, 실험군에서는 shield를 사용한 부위와 사용하지 않은 부위 사이에 큰 차이가 없었으며, shield를 장착한 부위에서는 대조군과 실험군 사이에 유의성 있는 차이가 나타났다. 이는 칫솔질과 같은 기계적 치태 제거가 동반되지 않은 상태에서도 Curcuma xanthorrhiza에 의해 baseline과 비슷한 수준의 치은지수가 유지됨을 나타내며, 치은염에 대한 항염효과 가능성을 보여준다. 마지막으로 출혈지수에서 shield가 장착된 부위는 대조군과 실험군 모두 3주 후 결과에서 큰 변화를 보이지 않았으나, shield를 장착하지 않은 부위에 있어서는 실험군이 대조군에 비해 유의할 만한 감소가 나타났다. 이는 칫솔질과 함께 사용될 경우 칫솔모가 치은열구 내 치은연하치태에 도달하여 기계적 제거를 일으킴과 동시에 Curcuma xanthorrhiza가 도달하여 항염 및 항균 작용을 일으킬 수 있도록 하기 때문이라 여겨진다.

치태는 치주 질환 진행에 중요한 역할을 하며¹⁻³⁾, 치은의 염증은 치은연하치태에 의한다는 연구와 함께 Löe 등²⁾과 Bossman & Powell²⁵⁾은 건강한 치은에 치태세균 침착이 증가되면 치은염이 유도되지만, 효과적인 구강위생관리를 시행할 경우 다시 치주건강을 회복할 수 있음을 보여주었다. 이러한 결과들을 바탕으로 치주염의 초기 예방 및 조절을 위해 기계적 치태 제거와 더불어 보조 수단으로 구강세척제와 치약 등 화학적 치태 조절 물질에 대한 여러 가지 연구가 이루어지고 있다.¹⁷⁻²¹⁾ 특히 천연 추출물 함유치약에 관한 연구가 대두되면서 이들 추출물의 치은지수나 치태지수 등에 대한 임상적 개선과 효과가 발표되었다.

37,38,41-43,62) Kim 등⁴³⁾은 후박 및 은행엽 추출물이 함유된 치약이 대조군에 비해 치태지수, 치은지수에서 호전되었음을 발표하였고, Yoo 등⁶³⁾은 카모밀레, 라타니, 몰약, 세이지유, 글리시레틴산 등의 생약성분을 함유한 치약이 치태지수, 치은지수, 치주낭 깊이, 세균수 등에서 유의성 있는 감소를 나타내었다고 보고하였다. 이는 치태형성과 치은염 발생의 연관성에 관한 Hilam 등⁶⁴⁾, Mandoki 등⁶⁵⁾의 발표와 일치한다고 할 수 있다.

그러나 오랫동안 인정되어 온 치태의 양과 치은염 심도의 비례관계에 대해 다른 의견들도 있다. Shipman 등⁶⁶⁾은 치태의 감소에도 불구하고 치은염에 큰 변화가 없음을 보고하였고, Spolsky 등⁶⁷⁾은 치태의 감소가 일어나지 않은 상태에서 치은염의 감소가 일어났음을 발표하였다. 치은염과 개체 감수성에 대한 여러 가지 연구도 진행되고 있는데, Hart와 Kornman 등⁵⁹⁾은 감수성에서 유전적인 요인의 중요성을 주장하였고, Trombello 등^{68,69)}과 Tataakis 등^{70,71)}은 비슷한 양의 치태가 침착되어도 치은염의 심도가 확연히 차이나는 “high responder”와 “low responder”에 관하여 발표하였다. 또한 Wiederman 등⁷²⁾은 인위적으로 치은염을 유발한 실험에서 치태침착에도 불구하고 치은염이 발생하지 않는 경우가 있다고 하였고, Winkel 등⁷³⁾과 Goodson 등⁷⁴⁾은 탐침 후 출혈이 IL-1 genotype에 따라 차이가 날 수 있다고 발표하였다. 본 실험에서도 이와 같은 결과들처럼 치태의 감소가 치은염 조절과 일치하지 않을 수도 있음을 확인하였다.

Curcuma xanthorrhiza는 치태의 침착을 직접적으로 억제하지는 않으나 시험관 실험에서 나타난 바와 같이 개체세포인 대식세포나 치주인대세포에 작용하여 IL-1 β , MMP-2 등의 활성화를 농도 의존적으로 억제함으로써 효과적인 항염 작용 및 콜라겐 보호 작용을 일으킬 수 있다. 이상의 결과에서 Curcuma xanthorrhiza는 치주낭 내 세균에 의해 유발되는 IL-1 β 와 MMP-2를 농도 의존적으로 억제하여 효과적인 항염효과와 치주염 진행 및 조직파괴 억제 효과를 나타내며, 임상적으로 치태가 존재하여도 이

러한 효과가 유지될 수 있음을 보여주었다. 이를 통해 Curcuma xanthorrhiza가 초기 치은염의 조절에 효과적으로 사용될 수 있음을 관찰하였고, 이후 치주염으로의 진행 억제 효과 및 진행된 치주염에서의 효과에 대한 보다 발전적인 장기간의 연구가 필요할 것이라 사료된다.

V. 결론

Curcuma xanthorrhiza 의 interleukin-1 β , 및 matrix metalloproteinase(MMP-2)에 대한 억제 효과를 알아보기 위한 시험관실험과 Curcuma xanthorrhiza 함유 치약의 치태 및 초기 치은염 조절에 대한 효과를 알아보기 위한 임상실험을 통해 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 시험관 실험상 Curcuma xanthorrhiza oil 처리군에서는 대조군과 비교하여 농도 의존적인 type IV collagenase MMP-2의 생성억제를 보였다.
2. 시험관 실험상 Curcuma xanthorrhiza oil 처리군에서는 치주염 관련 염증 매개체인 IL-1 β 생성을 농도 의존적으로 억제하는 효능을 나타내었다.
3. Curcuma xanthorrhiza oil 함유 치약군과 비함유 치약군에서 칫솔 없이 사용한 경우 치태 지수가 실험 전에 비해 모두 유의성 있는 증가를 보였다($p<0.05$).
4. 치은지수는 Curcuma xanthorrhiza oil 함유 치약군의 경우 실험 전에 비하여 유의성 있는 변화가 없었으나, Curcuma xanthorrhiza oil 비함유 군에서는 칫솔 없이 사용한 경우 유의성 있는 증가를 보였다($p<0.05$).
5. Curcuma xanthorrhiza oil 비함유 군에서 치은지수는 칫솔과 함께 사용한 부위보다 칫솔 없이 치약만 사용한 부위가 유의성 있는 증가를 보였다($p<0.05$). 한편, Curcuma xanthorrhiza oil 함유군에서 치은지수는 칫솔을 함께

사용한 부위와 치약만 사용한 부위 사이에 유의성 있는 차이를 나타내지 않았으며, 치약만 사용한 부위는 대조군에 비해 유의한 치은 지수 억제 효과가 있었다($p<0.05$).

6. 탐침 후 출혈의 경우 Curcuma xanthorrhiza oil 비함유 치약군에서는 칫솔과 함께 사용하여도 실험 전과 비교하여 유의성 있는 차이가 없었으나, Curcuma xanthorrhiza oil 함유치약은 칫솔과 함께 사용 시 실험 전보다 유의성 있는 감소를 나타내었다($p<0.05$).

이상의 결과에서 Curcuma xanthorrhiza oil 은 치은 내 IL-1 β 와 MMP-2의 억제효과를 갖고 있으며 Curcuma xanthorrhiza oil 함유치약은 치태침착 억제 효과는 미약하나, 치은염증을 완화시키는 항염 작용 및 치은염 진행에 관여하는 치태세균을 억제하는 항균 작용에 효과를 보이는 것으로 사료된다.

VI. 참고문헌

1. Löe H & Silness J : Periodontal disease in pregnancy. I. Prevalence and severity. Acta Odontologica Scandinavica 21: 533-551, 1963.
2. Löe H, Theilade E, Jensen SB : Experimental gingivitis in man. J Periodontol 36:177-187, 1965.
3. Theilade E : Dental plaque & dental calculus : In Lindhe J, Textbook of periodontology, 1983, Copenhagen, Munksgaard.
4. Page RC, Schroeder HE : Pathogenesis of inflammatory periodontal disease. A summary of current work. Lab Invest 33:235-249, 1976.
5. Page RC : Gingivitis. J Clin Periodontol 13:345, 1986.
6. Page RC : The role of inflammatory me-

- diators in the pathogenesis of periodontal disease. *J Periodont Res* 26:230, 1991.
7. Schroeder HE : Quantitative parameters of early human gingival inflammation. *Arch Oral Biol* 15:383, 1970.
 8. Schroeder HE, Page RC : Lymphocyte-fibroblast interactions in the pathogenesis of inflammatory gingival disease. *Experimentia* 28:1228, 1972.
 9. Richards D, Rutherford RB : The effect of interleukin 1 on collagenolytic activity and prostaglandin-E secretion by human periodontal ligament and gingival fibroblast. *Arch Oral Biol*, 33:237-243, 1988.
 10. Tataka DN : Interleukin-1 bone metabolism, a review. *J Periodontol* 64:416-431, 1993.
 11. Makela M, Salo T, Uitto VJ, Larjava H : Matrix metalloproteinases(MMP-2 and MMP-9) of the oral cavity : cellular origin and relationship to periodontal status. *J Dent Res* 73:1397-1406, 1994.
 12. Korostoff JM, Wang JF, Sarment DP, Stewart JCB, Feldman RS, Billings PC : Analysis of in situ proteinase activity in chronic adult periodontitis patients : expression of activated MMP-2 and 40Kda serine proteinase. *J Periodontol* 71:353-360, 2000.
 13. Creemers LB, Jansen ID, Docherty AJ, Reynolds JJ, Beertsen W, Everts V : Gelatinase A(MMP-2) and cysteine proteinase are essential for the degradation of collagen in soft connective tissue. *Matrix Biol* 17:35-46, 1998.
 14. Dahan M, Nawrocki B, Elkaim R, Soell M, Bolcato-Bellemin AL, Birembaut P, Tenenbaum H : Expression of matrix metalloproteinases in healthy and diseased human gingiva. *J Clin Periodontol* 28(2):128-36, 2001.
 15. Ejeil AL, Igondjo-Tchen S, Ghomrasseni S, Pellat B, Godeau G, Gogly B : Expression of matrix metalloproteinases (MMPs) and tissue inhibitors of metalloproteinases(TIMPS) in healthy and diseased human gingiva. *J Periodontol* 74(2):188-195, 2003.
 16. Delaleu N, Bickel M : Interleukin-1 beta and interleukin 18 ; regulation and activity in local inflammation. *Periodontol* 2000 35:42-52, 2004.
 17. Löe H, Schiott RG : The effect of suppression of the oral microflora upon the development of dental plaque and gingivitis. In *Dental Plaque*, Edinburgh, Livingstone, 1970:247.
 18. Putt MS, Van der Weijden GA, Kleber CJ, Saxton CA : Validation of 21-day, partial mouth gingivitis model for evaluating chemotherapeutic dentifrices. *J Periodontol Res* 28:301-307, 1993.
 19. Chilton NW, Fleiss JL : Design and analysis of plaque and gingivitis clinical trials. *J Clin Periodontol* 13:400, 1986.
 20. Theilade E, Wright W, Jensen SB : Experimental gingivitis in man II, a longitudinal clinical and bacteriological investigation. *J Periodontol Res* 1:1, 1966.
 21. Muller HP, Heinecke A, Eger T : Site-specific association between supragingival plaque and bleeding upon probing in young adults. *Clin Oral Invest* 4: 212-218, 2000.

22. Dorothy AP, Max OS : Plaque control. Clinical Periodontology, 8th Edition, WB Saunders Company : 493-509, 1996.
23. 경예진, 김창성, 서종진, 조규성, 채중규, 김종관, 최성호: 치태제거 및 치은 염증에 대한 실리콘 칫솔의 효과. 대한 치주과학회지 30:911-923, 2000.
24. Waerhaug J : Effect of toothbrushing on subgingival plaque formation. J Periodontol 52:30, 1981.
25. Bossman CW, Powell RN : The reversal of localized experimental gingivitis. A comparison between mechanical toothbrushing procedures and a 0.2% chlorhexidine mouthrinse. J Clin Periodontol 4:161, 1977.
26. Ainamo J : Control of plaque by chemical agent, J Clin Periodontol 4:23, 1977.
27. Addy M, Willis L, Moran J : Effect of toothpaste rinse compared with chlorhexidine of plaque formation during a 4-day period. J Clin Periodontol 10:89, 1983.
28. Mandel ID : Chemotherapeutic agents for controlling plaque and gingivitis. J Clin Periodontol 15:488-498, 1988.
29. Ciancio SG : Agents for the management of plaque and gingivitis. J Dent Res 71:1450-1454, 1992.
30. Greenfield W, Cuchel SJ : The use of an oral rinse and dentifrice as a system for reducing dental plaque. Compend Contin Educ Dent Supplement 5:582-586, 1984.
31. Loe H, Theilade E, Jensen SB, Schiott CR : Experimental gingivitis in man. 3. Influence of antibiotics on gingival plaque development. J Periodont Res 2: 282-289, 1967.
32. Rotgans J, Hoogendoorn H : The effect of tooth brushing with a toothpaste containing amyloglucosidase and glucose oxidase on plaque accumulation and gingivitis. Caries Research 13:144-149, 1979.
33. Gjermo P, Rolla G : The plaque inhibition effect of chlorhexidine containing dentifrice. Scan J Dent Res 79:126-132, 1971.
34. Bruhn G, Netuschil L, Richter S, Brex M, Hoffmann T : Effect of a toothpaste containing triclosan on dental plaque, gingivitis, and bleeding on probing : an investigation in periodontitis patient over 28 weeks. Clin Oral Investig 6(2): 124-7, 2002.
35. Saxton CA : The effect of dentifrice containing zinc citrate and 2,4,4'-trichloro-2'-hydroxy-diphenyl ether. J Periodontol 9:555-561, 1986.
36. 구경애, 조규성, 채중규, 김종관: 칫솔 및 치약 함유 성분이 치태 및 치은 염증에 미치는 영향에 대한 연구. 대한 치주과학회지 17:111-112, 1987.
37. Scheie AA : Modes of action of currently known chemical antiplaque agents other than chlorhexidine. J Dent Res 68:1609-1616, 1989.
38. Estafan D, Gultz J, Kaim JM, et al : Clinical efficiency of herbal tooth paste. J Clin Periodontol 9(2):31-33, 1998.
39. Mullally BH, James JA, Coulter WA, et al : The efficacy of a herbal-based toothpaste on the plaque and gingivitis. J Clin Periodontol 22(9):686-689, 1995.
40. Moran J, Addy M, Newcombe R :

- Comparison of an herbal toothpaste with a fluoride toothpaste on plaque and gingivitis. Clin Prev Dent 13(3):12-15, 1991.
41. 배광학, 이병진, 장윤경, 이병렬, 이원재, 장덕수, 문혁수, 백대일, 김종배 : NaF CPC 녹차 추출액 및 술잎 추출물을 배합한 구강 양치액의 치주질환 예방효과와 구취 감소효과 및 치아우식증 예방효과에 관한 연구. 대한 구강보건학회지 25(1):51-59, 2001.
 42. 홍석진, 최유진, 임희순, 손재범, 정성숙 : 금은화와 포공영 추출물이 첨가된 치약의 치면 세균막 및 치은염에 미치는 영향. 대한 구강보건학회지 25(4):347-355, 2001.
 43. 김태일, 염혜리, 류인철, 배기환, 정종평 : 후박 및 은행엽 추출물을 함유한 치약의 임상 및 미생물학적 효과에 관한 연구. 대한 치주과학회지 26(2):542-556, 1996.
 44. 김민경, 최성호, 신승운, 류인철, 허익, 박준봉, 조규성 : 키토산함유 치약의 임상적 효과 : Multicenter study. 대한 치주과학회지 33: 167-177, 2003.
 45. Rimpler H, Hansel R, Kochendoerfer L : Xanthorrhizol, a new sesquiterpene from Curcuma xanthorrhiza. Z Naturforsch B. 25(9):995-998, 1970.
 46. Tumeric, Javanese Curcumae xanthorrhizae rhizoma. European Pharmacopoeia-Supplement 2001:1557-1558.
 47. Itokawa H, Hirayama F, Funakoshi K, Takeya K : Studies on the antitumor bisabolane sesquiterpenoids isolated from Curcuma xanthorrhiza. Chem Pharm Bull(Tokyo) 33(8):3488-3492, 1985.
 48. Ismail N, Phhie AH, Nallapan M : Xanthorrhizol induces apoptosis via the up-regulation of bax and p53 in HeLa cells. Anticancer Res 25(3B):2221-7, 2005.
 49. Yasni S, Imaizumi K, Sin K, Sugano M, Nonaka G : Identification of an active principle in essential oils and hexane-soluble fractions of Curcuma xanthorrhiza ROXB. Showing triglyceride-lowering action in rats. Food Chem Toxicol 32:273-278, 1994.
 50. Lin SC, Lin CC, Lin YH, Supriyatna S, Teng CW : Protective and therapeutic effects of Curcuma xanthorrhiza on hepatotoxin-induced liver damage. Am J Chin Med. 23(3-4):243-54, 1995.
 51. Kim SH, Hong KO, Hwang JK, Park KK : Xanthorrhizol has a potential to attenuate the high dose cisplatin-induced nephrotoxicity in mice. Food Chem Toxicol. 43(1):117-122, 2005.
 52. Claeson P, Panthong A, Tuchinda P, et al : Three non-phenolic diarylheptanoids with anti-inflammatory activity from Curcuma xanthorrhiza. Planta Med 59: 451-454, 1993.
 53. Claeson P, Pongprayoon U, Sematong T, et al : Non-phenolic linear diarylheptanoids from Curcuma xanthorrhiza : a novel type of topical anti-inflammatory agents : structure-activity relationship. Planta Med. 62:236-240, 1996.
 54. Lee SK, Hong CH, Hur SK, Kim SS, Oh OJ, Min HY, Park KK, Chung WY, Hwang JK : Suppressive effect of natural sesquiterpenoids on inducible cyclooxygenase(COX-2) and nitric(iNOS) activity in mouse macrophage cells. J Environ Pathol Toxicol Oncol. 21:141-8, 2002.
 55. Ozaki Y : Antiinflammatory effect of Curcuma xanthorrhiza and its active

- principles. Chem Pharm Bull(Tokyo) 38 (4):1405-8, 1990.
56. Choi MA, Kim SH, Chung WY, Hwang JK, Park KK : Xanthorrhizol, a natural sesquiterpenoid from *Curcuma xanthorrhiza*, has an anti-metastatic potential in experimental mouse lung metastasis model. Biochem Biophys Res Commun. 326 (1):210-217, 2005.
57. Hwang JK, Shim JS, Pyun YR : Antibacterial activity of xanthorrhizol from *Curcuma xanthorrhiza* against oral pathogen, Fitoterapia. 71(3):321-323, 2000.
58. Hwang JK, Shim JS, Baek NI, Pyun YR : Xanthorrhizol : a potential antibacterial agent from *Curcuma xanthorrhiza* against *Streptococcus mutans*. Planta Med 66(2):196-197, 2000.
59. Hart TC, Kornman KS : Genetic factors in the pathogenesis of periodontitis. Periodontol 2000 14:202-215
60. Löe H, Anerud A, Boysen H, Smith M : The natural history of periodontal disease on man. The rate of periodontal destruction before 40 years of age. J Periodontol 49:607-620, 1978.
61. Löe H, Anerud A, Boysen H, Morrison E : Natural history of periodontal disease on man. Rapid, moderate, and no loss of attachment on Sri Lankan laborers 14 to 46 years of age. J Clin Periodontol 13: 431-445, 1986.
62. Renggli HH : The effect of Parodontax mouth wash and its constituents on the microorganism of subgingival plaque. J Clin Dent 1(spl.A):30-33, 1988.
63. 유승한, 홍성우, 김탁, 박영채, 김홍식, 유용욱, 유형근, 신형식 : 수 중의 생약제제가 함유된 치약이 치주질환에 미치는 영향. 대한치주과학회지 29(4):737-749, 1999.
64. Hillam DG, Hull PS : The influence of experimental gingivitis on plaque formation. J Clin Periodontol 4(1):56-61, 1977.
65. Mankodi S, Walker C, Conforti N, et al. : Clinical effect of a triclosan-containing dentifrice on plaque and gingivitis : a six-month study. Clin Prev Dent 14(6): 4-10, 1992.
66. Shipman B, Cohen E, Kaslick RS : The effect of a urea peroxidase gel of plaque deposits and gingival status. J Periodontol 42:283-285, 1971.
67. Spolsky VW, Bhatia HL, Forsythe A, Levin D : The effect of antimicrobial mouth wash on dental plaque and gingivitis on young adult. J Periodontol 46:685-690, 1975.
68. Trombelli L, Scapoli C, Orlandini E, Tossi M, Bottege S, Tatakis DN : Modulation of clinical expression of plaque-induced gingivitis. 1. Response of "high responder": and "low responder" to therapy. J Clin Periodontol 31:253-259, 2004.
69. Trombelli L, Tatakis DN, Scapoli C, Bottege S, Orlandini E, Tossi M : Modulation of clinical expression of plaque-induced gingivitis. 2. Identification of "high responder and low responder subjects". J Clin Periodontol 31:239-252, 004.
70. Tatakis DN, Trombelli L : Modulation of clinical expression of plaque-induced gingivitis. 1. Background review and rationale. J Clin Periodontol 31:229-238, 2004.

71. Scapoli C, Tatakis DN, Mamolini E, Trombelli L : Modulation of clinical expression of plaque-induced gingivitis : interleukin-1 gene cluster polymorphisms. *J Periodontol* 76(1):49-56, 2005.
72. Wiederman W, Laharsow J, Naujoks R : The effect of periodontal resistance on experimental gingivitis. *Deutsche Zahnärztliche Zeitschrift* 34:6-9, 1979.
73. Winkel EG, Abbas F, van der Velden U, Vroom TM, Scholte G, Hart AA : Experimental gingivitis in relation to age in individuals not susceptible to periodontal destruction. *J Clin Periodontol* 14:499-507, 1987.
74. Goodson JM, Plays MD, Socransky SS : Gingival bleeding accentuated by plaque in healthy IL-1(+) genotype subjects. *J Dent Res* 79:171.
75. Rahardjo A, Yoshihara A, Amarasena N, Ogawa H, Nakashima K, Miyazaki H : Relationship between bleeding on probing and periodontal disease progression in community-dwelling older adults. *J Clin Periodontol* 32(11):1129-33, 2005.
76. Renvert S, Persson GR : A systematic review on the use of residual probing depth, bleeding on probing and furcation status initial periodontal therapy to predict further attachment and tooth loss. *J Clin Periodontol* 29 Suppl 3:82-9, 2002.
77. de Souza PH, de Toledo BE, Rapp GE, Zuza EP, Neto CB, Mendes AJ : Reliability of bleeding and non-bleeding on probing to gingival histological features. *J Int Acad Periodontol* 5(3):71-6, 2003.
78. Chaves ES, Caffesse RG, Morrison EC, Stults DL : Diagnostic discrimination of bleeding on probing during maintenance periodontal therapy. *Am J Dent* 3(4):167-70, 1990.

Suppressive effect of Curcuma xanthorrhiza oil on plaque and gingivitis

Ji-youn Hong, DDS^{1,2} · Sang-Nyun Kim, PhD⁴ · Won- Ho Ha, MS⁴ · Sug-Youn Chang, MS⁴
In-Kwon Jang, DDS^{1,2} · Ji-Eun Park, DDS^{1,2} · Sung-Won Jung, DDS^{1,2}
Yoo-Jung Um, DDS^{1,2} · Chong-Kwan Kim, DDS, MSD, PhD^{1,2,3}

¹Department of Periodontology, College of Dentistry, Yonsei University,

²Research Institute for Periodontal Regeneration,

³Brain Korea 21 Project for Medical Science.

⁴LG Household & Healthcare R&D Park, Dae Jeon, Korea

To find out the suppressive effect of natural extract Curcuma xanthorrhiza on IL-1 β and MMP-2 derived from periodontal ligament cells through in vitro study and to confirm its effect on plaque and gingivitis through clinical study, Curcuma xanthorrhiza containing toothpaste was used and following results were produced.

1. In vitro study, type IV collagenase MMP-2 production was inhibited dose-dependently in the group treated with Curcuma xanthorrhiza compared to the control group.
2. In vitro study, the production of IL-1 β which is one of the inflammatory mediators associated with periodontitis was inhibited dose-dependently in the group treated with Curcuma xanthorrhiza.
3. On the third week, the plaque index of the groups treated with or without Curcuma xanthorrhiza containing toothpastes were both increased significantly compared to the baseline($p<0.05$).
4. On the third week, the gingival index of the group treated with Curcuma xanthorrhiza containing toothpaste was not significantly different from baseline. However, the group treated without Curcuma xanthorrhiza containing toothpaste showed a significant increase of gingival index at shielded area($p<0.05$).

5. The gingival index of the group without Curcuma xanthorrhiza containing toothpaste showed a significant increase in the sites without tooth brushing when compared to sites with tooth brushing($p<0.05$). However, there was no significant difference for the group with Curcuma xanthorrhiza containing toothpaste in sites either with or without tooth brushing.
6. The Bleeding on probing for the group without Curcuma xanthorrhiza containing toothpaste showed no significant difference even when tooth brushing was done. However, for the group with Curcuma xanthorrhiza containing toothpaste, bleeding on probing was significantly reduced compared to baseline when tooth brushing was done($p<0.05$).