

생약 제제가 세포활성도에 미치는 효과

두진수 · 강정구 · 유형근 · 신형식

원광대학교 치과대학 치주과학교실

I. 서론

치주질환은 치은 출혈과 종창, 치주낭의 형성 및 치조골의 파괴 등으로 치아 상실의 주된 원인이 되고 있다¹⁻⁴⁾. 일반적으로 치주염의 발병은 여러 국소적, 전신적 요인에 의한 치은의 염증이 치주조직의 광범위한 파괴를 야기하며 이때 구강내의 여러 환경 조건과 외부 조건이 깊이 관련되고 있다. 따라서 치주질환의 치료는 염증의 진행 과정을 차단, 방지하거나 염증의 결과로 초래된 파괴상을 재생시킬 목적으로 시행되어 왔다⁵⁻⁸⁾. 이 중 치주치료에 있어서 치주조직의 재생은 가장 중요하고도 기본적인 목적이다. 치주질환으로 인해 상실된 치주 조직을 재생하기 위해서는 골 이식술⁹⁻¹¹⁾, 치근면 처리술¹²⁻¹⁴⁾, 조직 유도 재생술¹⁵⁻¹⁸⁾, 등과 같은 여러 가지의 술식이 사용되어져 왔다. 이러한 치료 형태의 임상적 가능성은 많은 연구를 통해 이루어졌으며 특히 조직 유도 재생술은 치주인대에서 유래되는 전구 세포들이 백악질과 치주인대, 골 등과 같은 조직을 재생시킬 수 있는 능력을 가졌다는 가설을 전제로 하고 있기 때문에 치

주인대 섬유모세포가 치주 조직 재생에 중요한 역할을 하고 있으며 여기에는 치주 인대 세포의 이주와 증식이 필요한 것으로 여겨지고 있고 이러한 과정은 성장 인자에 의해서 영향을 받고 조절되어 질 수 있다. 또한 골조직은 세포외 기질과 여러 종류의 세포들을 포함하고 있는 복잡한 조직으로서 일생동안 골개조가 반복되는 동적인 조직으로서 골조직의 성장과 개조에 관여하는 조골세포, 파골세포, 및 전구세포의 증식, 분화, 및 활성화는 여러 가지 호르몬등의 전신적 인자와 cytokine과 같은 국소적 인자에 의하여 조절되고 있다¹⁹⁻²⁰⁾.

한편 이와 같은 성장인자와 더불어 한의학에서 치주조직을 재생시키는 물질의 연구가 이루어져 왔다. 한방에서의 치주질환에 대한 관심은 오래 전부터 시작되었던 것으로 나타나고 있는데 치주질환은 황제내경(皇帝內經)에 처음으로 수록된 증상으로 구창(口瘡)이라고 알려져 왔다. 구창을 치료하기 위한 많은 한약처방과 함께 각각의 한약제가 면역억제제, 항염제, 살균제, 항진균제, 진통제, 해열제, 궤양억제제, 타액분비촉진제등으로 사용되고 있다는 다수의 보고가 있으며, 황백(黃

*이 논문은 1997년도 원광대학교 교비 지원에 의해서 연구됨

栝 : *Phellodendri Cortex*), 길경(桔梗 : *Platycodia Radix*), 형개(荊芥 : *Nepetae Spica*), 웅담(熊膽 : *Fel Uris*)의 유사성분 등은 그 중에서도 비교적 중요한 약재로 사용되어 왔다²¹⁻³⁰⁾.

홍화(紅花, *Carthami Flos*)는 활혈거어약에 분류되며 국화과에 속하는 1년생 초본식물인 잇꽃의 화판이다. 임상적으로 혈액 순환을 잘 되게 하고 어혈을 해치고 동통을 멈추게하는 경우에 사용되어져 왔다. 또한 홍화씨(紅花種, *Seed of Carthamus Tinctorius L.*)는 골절, 파골, 쇄골은 물론 각종 골질환과 연약한 뼈의 강화에 놀라운 효과를 발휘하는 것으로 알려져 있다. 삼릉(三稜, *Scirpi Rhisoma*)은 활혈거어약으로 분류되며 사초과에 속하는 숙근초인 매자기의 뿌리인데, 기를 잘 순환시키고 어혈을 제거하며 동통을 멈추게하는 작용을 한다고 알려져 있다. 목단피(牡丹皮, *Moutan Radicis Cortex*)는 청열양혈약에 분류되며 미나리아재비과에 속하는 다년생 관목 모란의 뿌리 껍질이다. 주 성분인 페놀배당체는 세균 세포벽 변성을 야기시키는데 이는 항치태제인 Listerin의 주성분이다. 페놀은 진정작용, 열내림작용, 항염증작용, 지혈작용이 있다. 이러한 여러 생약제들은 한방에서 오래전부터 항염작용, 혈액순환, 진정, 진통작용 등을 위해서 사용되어져 왔고 치주조직의 치유에 다양한 작용을 할 것으로 사료된다. 본 연구의 목적은 한방에서 민간요법으로 이용되고 있는 위와 같은 생약제제를 이용하여 치은섬유모세포, 치주인대세포에 있어서의 세포활성을 평가함으로써 치주질환의 재생에 기여할 수 있는 지를 알아보기 위함이다.

II. 재료 및 방법

1. 치주인대세포의 배양

치주인대세포는 교정치료를 위하여 발거한

소구치로부터 얻었다. 발거한 치아를 PBS(phosphated buffered saline, GIBCO/BRL, USA)로 3회 세척하여 잔존하는 혈액과 이물질을 제거하였다. 세척한 치아를 100mm 조직배양용 접시에 옮기고 15번 blade를 이용하여 우태아 혈청(GIBCO/BRL, USA) 10%와 항생제(Penicillin G 10000 units/ml, Streptomycin 10000 μ l/ml 및 Amphotericin B 25 μ l/ml, GIBCO/BRL, USA) 1%를 포함한 Dulbecco's Modified Eagle Medium(DMEM, GIBCO/BRL, USA)내에서 치근 중간 1/3에 위치한 치주인대조직을 분리한 후 이들을 1mm²으로 세절하여 60mm 조직배양용 접시에 5-6개의 조각을 위치시켰다. 그 후 약 30분간 37°C, 5% CO₂, 습도 100%의 배양기에서 배양접시 바닥에 조직이 고르게 부착되도록 배양시킨 후, 각 배양접시당 10% 우태아 혈청과 1% 항생제가 첨가된 Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM, GIBCO/ BRL, USA) 3ml 씩을 첨가하고, 단일세포층이 형성될 때까지 2~3일 간격으로 배양액을 교환하였다. 단일 밀생이 형성된 후 배양액을 제거하고 2회 세척 후 Trypsin-EDTA(0.05% Trypsin, 0.53 mM EDTA, GIBCO/BRL, USA)를 이용하여 세포배양 접시에 부착된 세포를 분리시킨 후 60mm 조직배양용 접시에 분주하였다. 배양액은 세포의 충분한 증식이 나타날 때까지 2-3일 간격으로 교환하였고 계대배양은 1:3~4의 비율로 시행하였다. 본 실험에서는 5~8회 계대배양된 치주인대세포를 이용하였다.

2. 치은섬유모세포의 배양

치은섬유모세포는 교정치료를 위하여 발거한 소구치의 치경부에 붙어 있는 치은조직을 떼어 이용하였으며 치주인대세포와 동일한 방법과 시약으로 배양하였다.

3. 생약의 준비

홍화, 목단피, 삼릉, 홍화씨 등을 증류수 1000ml로 가열 추출한 후 여과하여 rotary evaporator로 농축한 다음 freeze dryer로 동결 건조하여 90g의 분말을 얻었다. 세포실험시에는 3차증류수에 용해시킨 뒤 직경이 0.2 μ m의 membrane filter로 여과 멸균하였고, 10⁻¹g/ml에서 10⁻¹¹g/ml까지의 농도로 각 군당 10배의 농도차가 되도록 약제를 준비하였다.

4. 세포활성도 분석

5~8회 계대배양된 치은섬유모세포, 치주인대세포를 Trypsin-EDTA(0.05% Trypsin, 0.53 mM EDTA, GIBCO/BRL, USA)로 떼어내어 trypan blue로 염색한 후 hemocytometer로 세포 수를 세어 96-well plate의 각 well당 2×10³의 세포가 들어 가도록 분주하였다. 세포들이 부착할 수 있도록 1일 간 37℃, 5% CO₂, 100% 습도의 배양기에서 배양한 후 부착되지 않은 세포를 제거하기 위해 배지를 제거하고 새로운 Dulbecco's Modified Eagle Medium(DMEM, GIBCO/BRL, USA) 180 μ l를 각각의 well에 첨가하였다. 그리고 각 농도의 생약을 20 μ l 첨가하고 1, 2, 3일 동안 배양하였으며, 대조군에는 증류수를 넣었다. 각각의 시간이 경과된 후 PBS로 용해한 MTT (3-(4,5- dimethylthiazol-2 -yl)-2, 5-diphenyl

tetrazolium bromide; No. M2128, Sigma, USA) 용액 50 μ l씩을 각각의 well에 첨가하여 4시간 동안 CO₂ 배양기에 배양하였다. 배양 후 배지를 제거하고 200 μ l의 DMSO(Dimethyl sulfoxide, D5879, Sigma, USA)와 25 μ l의 glycine buffer를 첨가하여 형성된 formazan결정을 용해시키고 Plate를 잘 흔든 후 ELISA analyser(Spectra, MAX 250, Molecular Devices Co.)에 plate를 넣고 570nm의 파장에서 흡광도를 측정하였다.

5. 통계분석

세포 활성도의 평균과 표준 편차를 구하였고 통계학적 유의성은 일원분산분석법(ANOVA)을 이용하였다.

Ⅲ. 연구결과

1. 치은섬유모세포에 홍화, 목단피, 삼릉, 홍화씨를 처리한 경우의 세포활성도

홍화를 치은섬유모세포에 투여한 1일군에서는 10⁻³g/ml에서 가장 높은 세포활성도를 보였고 2일군에서는 10⁻³g/ml에서 가장 높은 활성도를 보이면서 10⁻²g/ml와 10⁻⁴g/ml에서도

표 1 Effect of *Carthami Flos* on Cellular Activity of both cells(Mean \pm S.D)

	1		2		3	
	GF	PDL	GF	PDL	GF	PDL
control	99.30 \pm 2.44	100.00 \pm 7.81	100.00 \pm 2.04	99.95 \pm 4.91	100.00 \pm 4.47	99.98 \pm 1.97
10 ⁻² g/ml	210.21 \pm 13.08*	13.10 \pm 10.26*	156.51 \pm 29.37*	20.04 \pm 4.65*	136.60 \pm 1.40*	26.78 \pm 3.69*
10 ⁻³ g/ml	332.66 \pm 9.46*	123.32 \pm 2.89*	186.06 \pm 12.04*	133.27 \pm 5.53*	129.60 \pm 13.00*	138.35 \pm 14.30*
10 ⁻⁴ g/ml	111.97 \pm 3.73	94.06 \pm 2.88	156.97 \pm 3.77*	119.30 \pm 7.13*	134.30 \pm 1.91*	105.83 \pm 5.36

* Significantly different from the control (P<0.05)

표 2 Effect of *Moutan Radicis Cortex* on Cellular Activity of both cells(Mean±S.D)

	1		2		3	
	GF	PDL	GF	PDL	GF	PDL
control	100.00±6.86	100.00±4.64	100.00±2.50	100.01±8.39	100.10±1.38	100.02±2.98
10 ⁻² g/ ml	126.62±9.51*	129.93±17.22*	106.71±13.98	85.14±11.44*	26.83±4.67*	75.06±17.46*
10 ⁻³ g/ ml	327.15±6.41*	113.73±4.53*	148.29±9.66*	118.04±1.91*	101.32±13.96	108.03±7.21
10 ⁻⁴ g/ ml	142.48±2.71*	98.82±4.08	184.87±10.85*	120.13±4.31*	142.79±8.15*	111.93±6.56

* Significantly different from the control (P<0.05)

표 3 Effect of *Scirpi Rhisoma* on Cellular Activity of both cells(Mean±S.D)

	1		2		3	
	GF	PDL	GF	PDL	GF	PDL
control	100.00±6.86	100.00±4.64	100.00±2.50	100.01±8.39	100.10±1.38	100.02±2.98
10 ⁻² g/ ml	126.62±9.51*	129.93±17.22*	106.71±13.98	85.14±11.44*	26.83±4.67*	75.06±17.46*
10 ⁻³ g/ ml	327.15±6.41*	113.73±4.53*	148.29±9.66*	118.04±1.91*	101.32±13.96	108.03±7.21
10 ⁻⁴ g/ ml	142.48±2.71*	98.82±4.08	184.87±10.85*	120.13±4.31*	142.79±8.15*	111.93±6.56

* Significantly different from the control(P<0.05)

표 4 Effects of Seed of *Carthamus Tinctorius L.* on Cellular Activity of both cells(Mean±S.D)

	1		2		3	
	GF	PDL	GF	PDL	GF	PDL
control	100.00±0.00	100.00±0.00	100.00±0.00	100.00±0.00	100.00±0.00	100.00±0.00
10 ⁻² g/ ml	241.27±3.86*	116.68±8.53	123.80±15.48*	219.90±43.75*	153.20±34.81*	206.88±24.67*
10 ⁻³ g/ ml	252.91±2.21*	188.59±25.35*	261.24±10.53*	284.94±1.67*	102.96±8.67	241.86±5.04*
10 ⁻⁴ g/ ml	205.03±11.85*	126.98±6.24*	194.49±9.52*	192.75±28.25*	200.65±6.00*	243.37±1.52*

* Significantly different from the control(P<0.05)

유의성 있는 세포활성도를 보였다. 3일군에서는 10⁻²g/ml, 10⁻³g/ml, 10⁻⁴g/ml에서 모두 유의성있게 증가하였다(표 1).

목단피를 치은섬유모세포에 투여한 1일군에

서는 10⁻³g/ml에서 가장 높은 세포활성도를 보였고 2일군과 3일군에서는 10⁻⁴g/ml에서 가장 높은 세포활성도를 보였으며 10⁻³g/ml는 1일군보다 시간이 경과함에 따라 점차 감소되

는 양상을 보이면서 3일째는 대조군과의 유의성이 나타나지 않았다. 10^{-2}g/ml 에서는 대조군보다 1일, 2일, 3일에서 모두 감소된 세포활성도를 보였는데 이는 삼릉에서의 실험결과와 유사하였다(표 2).

삼릉을 치주인대세포에 투여한 1일군에서는 10^{-3}g/ml 에서 가장 높은 세포활성도를 보였고 2일군과 3일군에서는 10^{-4}g/ml 에서 가장 높은 세포활성도를 보였으며 1일군에서 가장 높은 활성도를 보인 10^{-3}g/ml 는 2일째에서는 대조군과 유의한 차이를 보이지 않고 3일째에 다시 유의성있는 세포활성도를 보였다. 10^{-2}g/ml 에서는 1일, 2일, 3일에서 대조군보다 모두 감소된 세포활성도를 보였다(표 3)

홍화씨의 경우는 1일군에서 농도가 증가함에 따라 세포활성도의 증가를 보였으나 10^{-2}g/ml 의 농도에서 약간의 감소를 보였다. 2일군과 3일군에서는 각각 10^{-3}g/ml 과 10^{-4}g/ml 농도에서 가장 높은 세포활성을 나타냈으며 그 이상의 농도에서는 감소하는 경향을 보였다(표 4).

2. 치주인대세포에 홍화, 목단피, 삼릉, 홍화씨를 처리한 경우의 세포활성도

홍화를 치주인대세포에 투여한 1일군에서는 10^{-3}g/ml 에서 가장 높은 세포활성도를 보였고 이는 시간이 지나면서 약간씩 증가하여 3일군에서 전체적으로 가장 높은 세포활성도를 보였다. 10^{-2}g/ml 에서는 1일군에서 전체적으로 가장 낮은 세포활성도를 보이고 이는 시간이 지나면서 약간씩 증가하였으나 대조군과 비교시 매우 낮은 세포활성도를 보였다. 10^{-4}g/ml 에서는 2일군에서 대조군과 비교하여 약간 유의성있게 높은 세포활성도를 보이나 1일군과 3일군에서는 대조군과 유의한 차이를 보이지 않았다. 10^{-5}g/ml 에서는 2일군에서 약간 세포활성도의 감소가 보이나 이 농도에서는 대조군과 비교시 유의한 차이를 보이지 않았

다(표 1).

목단피를 치주인대세포에 투여한 1일군에서는 10^{-2}g/ml 에서 가장 높은 세포활성도를 보이나 2일과 3일째에서 대조군과 비교하여 유의성있게 감소된 세포활성도를 보였다. 10^{-3}g/ml 와 10^{-4}g/ml 에서는 2일째에 유의성있게 증가된 세포활성도를 보이나 1일과 3일째에는 유의한 차이를 보이지 않았다(표 2).

삼릉을 치주인대세포에 투여한 1일군에서는 10^{-3}g/ml 에서 가장 높은 세포활성도를 보이고 2일군과 3일군에서 이 보다 약간 증가한 세포활성도를 보였다. 10^{-2}g/ml 에서는 2일째까지 대조군과 비교하여 유의성있게 증가하나 3일째에서는 유의성있게 감소하였다. 10^{-4}g/ml 에서는 2일군에서 대조군과 비교하여 유의성있게 증가하나 1일군과 3일군에서는 대조군과 유의한 차이를 보이지 않았다(표 3).

치주 인대세포에 대한 홍화씨의 세포활성도에 있어서 1일군에서는 10^{-3}g/ml 에서 활성의 증가를 나타내다가 10^{-2}g/ml 에서 감소를 나타냈다. 2일군과 3일군에서는 각각 10^{-3}g/ml 과 10^{-4}g/ml 에서 가장 유의한 세포활성도를 보였고 그 이상의 농도에서는 현저한 감소를 나타내었다(표 4).

IV. 총괄 및 고찰

치주치료는 병적으로 소실된 연조직 및 골구조물을 이상적으로 재건 혹은 복구하는 것이 목표이다. 이를 위한 시도로서 임상가들은 과거부터 노력을 기울여 골재생, 백악질 형성, 그리고 신부착을 얻기 위한 섬유성 부착등을 유도하는 다양한 방법을 시도하였고 성공을 이루어냈다. 이식재와 함께 또는 결손부 자체 형태가 혈병을 붙잡아두는 골 형태를 제공, 골의 측방벽으로부터 원시 혈관성 및 골성 세포들이 안으로 성장하도록 하는 골유도 술식이 한 예이다. 또한 상피의 근단 증식을 배제하거나 방지하여 다른 세포들을 증식하게

하여 골과 치주인대의 재생가능성을 증가시키는 조직유도 재생술식은 파괴조직의 재생을 위한 더 진보된 방법으로 생각된다.

이중 치주인대세포는 섬유아세포, 조골세포, 파골세포, 백악아세포, 미분화 중배엽 세포들을 함유하고 있으며 치주인대 세포만이 기능적으로 배열된 사피스섬유가 신생백악질과 치조골에 삽입되는 신부착을 형성하여 치주조직의 재생에 기여한다고 알려져 있다. 그러므로 치주조직의 재생을 위해서는 치주인대세포가 치유부의 다른 세포들보다 선행하여 이주하는 것이 중요하다.

또한 이러한 치주조직의 회복과 재생의 과정은 세포화학주성, 증식, 분화, 세포외 기질 조성의 형성을 자극하는 능력을 갖는 성장인자의 국소적 생산에 의해 조절된다.

최근 생약재제의 이용에 있어 Mullaly 등³¹⁾은 치태형성과 치은염에 미치는 효과에 대해 보고하였고 Daniela 등도³²⁾ 치은염의 소독과 염증완화에 대한 약초의 효과를 소개하였으며 천일염을 대나무에 충전하여 소성시켜 제조한 죽염이 살균력을 증가시키고 치은염의 증상을 완화시킨다는 다수의 보고가 이루어져 생약에 의한 치주질환에 있어서 예방과 치료에 대한 관심이 증가되고 있다. 물론 생약은 반드시 밝혀진 유효성분만으로서 그 약효를 명확하게 규정지을 수는 없으며, 해당 생약이 지니는 주성분과 부차적 성분사이의 상승효과나 공존하는 성분끼리는 길항효과가 나타나는 경우도 있고 조제의 방식에 따라 서로 다른 역효과가 나타날 수 있어 이에 대한 효과를 단정적으로 표현할 수는 없으나, 우리 조상들이 수천년간 사용하여 온 경험은 충분히 연구되고 활용되어야 할 것으로 생각된다. 송 등³³⁾은 isoquinoline계 alkaloid인 berberine을 주성분으로 하는 황련(黃蓮, *rhizoma coptidis*)이 치주인대세포의 활성을 촉진하며 IL-6의 생산을 억제한다고 보고 하였으며, 장 등³⁴⁾은 magnolol과 honokiol이 염증의 매개물질인

cytokines의 생산을 억제한다고 보고하였다. 또한 양 등³⁵⁾은 단핵세포를 lipopolysaccharide로 기시시킨 후 대조추출물 첨가시 IL-1 β 의 생산 억제 효과를 보고하였다.

홍화, 삼릉, 목단피를 투여한 군의 10⁻³g/ml에서 세포활성이 다른 농도에서보다 대조군과 비교하여서 가장 높게 유의한 증가를 나타내는 결과를 보였다. 이러한 높은 세포활성도는 치주치료후의 치유과정을 이들 생약재제가 촉진시킬 수 있을 것이라고 생각된다.

한편 홍화씨는 과거에 특별히 연구된 바는 없으나 최근 골절과 골다공증, 골형성부전증 등의 각종 골질환에 탁월한 효능을 보인다는 민간요법의 보고가 계속되어 치주조직의 재생에 관여하는 치주인대세포와 치은섬유모세포에 어떠한 영향을 미치는지 알아보기 위하여 이용되었다. 치은섬유모세포에서 1일군에서는 약재의 농도가 증가함에 따라 세포활성도의 유의한 증가를 보였고 2일군과 3일군에서는 각각 10⁻³g/ml과 10⁻⁴g/ml의 농도에서 가장 높은 세포활성을 나타냈으며 그 이상의 농도에서는 세포활성의 감소를 나타냈는데 이는 고농도의 약재가 치은섬유모세포에 대해 성장을 억제시키는 것으로 생각된다. 치주인대세포에 대한 홍화씨의 세포활성도에 있어서 1일군에서는 10⁻³g/ml에서 활성의 증가를 나타내다가 10⁻²g/ml에서 감소를 보였으며 2일군과 3일군에서는 각각 10⁻³g/ml과 10⁻⁴g/ml에서 가장 유의한 세포활성을 보였고 그 이상의 농도에서는 약재가 세포에 독성으로 작용하여 현저한 감소를 나타내었다. 본 연구에서는 홍화씨를 대상으로 골아세포에 대한 세포활성도도 측정을 하였는데 골아세포에 대한 세포활성도는 1일군과 2일군에서 10⁻³g/ml 농도가 가장 높은 세포활성도를 보였고 3일군에서는 10⁻⁴g/ml 농도에서는 가장 높았으며 그 이상의 농도에서는 현저한 감소를 보였다($p < 0.05$). 치주인대세포는 조골세포의 기능을 나타내는 지표인 alkaline phosphatase

활성도가 높으며 제 1, 3, 5형의 교원질을 합성하고 osteonectin, bone proteoglycan I, bone sialoprotein I등을 생성함으로써 다른 결체조직에 존재하는 세포와 달리 경조직을 형성하는 세포의 특성과 유사하다는 연구가 계속 보고되고 있어서 치주조직 재생에 관여하는 세포로 알려진 치주인대세포 및 쥐의 두 개 골에서 분리 추출한 골아세포에 대하여 홍화씨가 교원질 생성에 미치는 영향을 알아보기 위해 hydroxyproline을 이용하여 간접적으로 측정하였다. 치주인대세포는 세포활성도에 대해 높은 활성을 보였던 10^{-3}g/ml 의 농도에 대해 교원질 합성능이 대조군에 비해 10^{-3}g/ml 군에서 2배 이상의 교원질 합성량을 보여 유의한 증가를 나타냈고 이는 홍화씨가 국소적 인자로 치주인대세포의 성장 및 분화에 영향을 미쳐 치주조직의 정상적인 대사, 치유 및 재생에 중요한 영향을 미칠수 있을것으로 생각된다. 골아세포에서는 세포활성도에 대해 높은 활성을 나타냈던 10^{-3}g/ml 의 농도에 대한 교원질 합성능 실험결과에서 대조군에 비해서 1.3배 정도의 증가를 보였다($p<0.05$). 골 흡수 및 조골세포 증식에 대해 홍화씨가 미치는 영향에 대해서 치주인대세포 및 골아세포로부터 형성되는 c-AMP의 합성량, 교원질 유형, alkaline phosphatase 활성도 등에 대한 연구가 향후 필요하며 prostaglandin등이 합성되어 유리되는 물질들 중 IL-1, TGF, FGF등의 골개조에 관련된 물질들 간의 상호작용 및 생물학적 작용을 분석함으로써 치주인대세포와 골아세포의 역할 및 생물학적 중요성을 규명해야 한다고 생각된다. 또한 홍화씨와 성장인자의 복합적인 사용을 통해 치주조직의 재생에 있어 상승효과를 나타낼 수 있는 지에 대해서도 향후 심도있는 연구가 필요하리라 생각된다.

따라서 본 실험에서 사용된 홍화, 삼릉, 목단피, 홍화씨 등은 치은섬유모세포와 치주인대세포에서 세포활성을 증가시키는 농도가 존

재하며 이 농도에서 각각의 생약제가 임상에서의 치주치료후 치유에 적용함에 유용하게 사용될 수 있으며 치주포대와 국소적 서방형 방출장치에 응용이 가능할 것이라고 사료되고 앞으로 더욱 발전된 시도와 더 많은 연구가 필요 할 것으로 생각된다.

V. 결론

한의학에 사용되는 생약제중 항염증작용, 혈액순환과 조직 재생을 도와주는 홍화, 목단피, 삼릉, 홍화씨를 치은섬유모세포와 치주인대세포에 1일, 2일, 3일간 처리했을 때의 세포활성도를 알아보고자 시행한 실험에서 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 치은섬유모세포의 경우 홍화는 10^{-2}g/ml 와 10^{-3}g/ml 에서 세포활성도가 유의성있게 증가하지만 시간이 경과함에 따라서 감소하였다. 삼릉은 10^{-3}g/ml 와 10^{-4}g/ml 에서 전반적으로 유의성있게 증가하였다. 목단피는 10^{-3}g/ml 에서 초기에는 높은 세포활성도를 보이나 시간이 경과하면서 점점 감소하였고 10^{-4}g/ml 에서는 2일군에서 가장 높은 세포활성도를 보이고 1일과 3일군에서도 유의성있는 증가를 보였다. 홍화씨는 1일군에서 농도의 증가에 따라 세포활성도의 증가를 보였고 2일군과 3일군에서는 10^{-3}g/ml 과 10^{-4}g/ml 의 농도에서 각각 가장 높은 세포활성도를 보였다.
2. 치주인대세포의 경우 홍화는 10^{-3}g/ml 에서 세포활성도가 유의성있게 증가하고 시간이 경과함에 따라서 점점 더 증가하였다. 삼릉은 10^{-3}g/ml 에서 전반적으로 유의성있는 증가를 보였고 10^{-2}g/ml 에서는 2일군까지는 증가하나 3일군에서 유의성있게 감소하였다. 목단피는 10^{-2}g/ml 에서 증가한 세포활성도가 2일군부터 급

격히 감소하고 전반적으로 유의성있게 증가하는 군은 발견하지 못하였다. 홍화씨는 2일군과 3일군에서 각각 10^{-3}g/ml 과 10^{-4}g/ml 의 농도에서 가장 유의한 증가를 나타냈다.

이상의 결과에서 치은섬유모세포와 치주인대세포는 전반적으로 홍화, 목단피,삼릉, 홍화씨 등의 생약제 투여시에 대조군과 비교하여 10^{-3}g/ml 에서 가장 높은 세포활성도를 보여 이들 생약제제의 이용은 치주조직 세포에 작용하여 치주조직의 재건과 재생에 기여할것으로 생각된다.

VI. 참고문헌

1. Socransky, S. S. et al.(1984): Nex concepts of destructive periodontal disease ; J. Clin. Periodontol., 11: 21
2. Socransky, S. S. and Haffajee A. D. (1986): Frequency distribution of periodontal attachment loss. Computer stimulation, J. Clin. Periodontol., 13: 617
3. Manson, J. D. (1976): Bone morphology and bone loss in periodontal disease, J. Clin. Periodontol., 3:314.
4. Manson, J. D., and Nicholison, K.(1974): The distribution of bone defects in chronic periodontitis, J. Periodontol., 45:88
5. Nyman, S., Gottlow, J., Karring, T., et al. : The regenerative potential of the periodontal ligament. An experimental study in the monkey. J. Clin. Periodontol. 9: 157, 1982
6. Nyman, S., Lindhe, J., Karring, T., Rylander, H. : New attachment following surgical treatment of human

- periodontal disease. J. Clin. Periodontol. 8: 209, 1982
7. Polson, A.M., Proye,M.P. : Fibrin linkage : A precursor for new attachment, J. of Periodontol. 54: 141, 1983
8. Toshiro Kodama Masato Minabe, Toshio Mori, and Yoshihisa Watanabe. : The effect of various concentration of collagen barrier on periodontal wound healing. JOP Vol 60, Number 4. 205-210, 1989
9. Schallhorn, R.G. and Hiatt, W.H. : Human allografts of iliac cancellous bone and marrow in periodontal osseous defects. II. Clinical observations, J. Periodontol. 43, 67-81, 1972
10. Dragoo, M.R. and Sullivan, H.C. : Clinical and histological evaluation of autogenous iliac bone grafts in humans. Part I. Wound healing 2 to 8 months, J. Periodontol. 44,599-613, 1973
11. Bowers, G.M., Schallhorn, R.G. and Mellonig, J.T. : Histologic evaluation of new attachment in human intrabony defects. A literature review, J. Periodontol. 53,509-514, 1982
12. Cole, R.T., Crigger, M., Bogle, G., Egelberg, J., and Selvic, K.A. : Connective tissue regeneration to periodontally diseased teeth. A histological study. J. Periodont. Res. 15,1-9, 1980
13. Terranova, V.P. and Wikesjo, U.M.E. : Extracellular matrices and polypeptide growth factors as mediators of functions of cells of the periodontium. A. review, J. Periodontol. 58, 371-380, 1987
14. Hanes, P.J. and Polson, A.M. ; Cell and

- fiber attachment to demineralized cementum from normal root surfaces. J. Periodontol. 60, 188-198 1989
15. Gottlow, J., Nyman, S., Karring, T., and Lindhe, J. ; New attachment formation as the result of controlled tissue regeneration. J. Clin. Periodontol. 11, 494-503, 1984
16. Magnusson, I., Nyman, S., Karring, T., and Egelberg, J. ; Connective tissue attachment formation following exclusion of gingival connective tissue and epithelium during healing. J. Periodontal Res. 20,201-208, 1985
17. Blumenthal, N.M. ; The use of collagen membranes to guide regeneration of new connective tissue attachment in dogs. J. Periodontol. 59, 830-839, 1988
18. Caffesse, R.G., Smith, B.A., Castelle, W.A. and Nasjleti, C.E. ; New attachment achieved by guided tissue regeneration in beagle dogs. J. Periodontol. 59, 589-594, 1988
19. Martin TJ, Ng KW, Suda T: Bone cell physiology. Endocrinol Met Clin AM, 18: 833-858, 1989
20. Nijweide PJ, Burger EH, Feyen JHM: Cell of bones: Proliferation, Differentiation, and Hormonal Regulation. Physiol Rev, 66:855-886, 1986
21. 木村雄四郎 : 和漢藥의 世界, 創元社, p 53, 1974
22. 高木敬次郎 : 日藥學雜誌, p. 951-69, 1972
23. 陸昌洙 : 現代方藥合編, 계축문화사, p. 458, 1976
24. 신민효 : 臨床本草學, 1986 南山堂
25. 高木敬次郎 등 ; 和漢藥物學, 제 1판, 1982, 南山堂
26. 生藥學 研究會 ; 現代 生藥學, 1994, 學窓社
27. 陸昌洙, 金成萬 : 漢藥의 藥理, 成分, 臨床應用, 1982, 癸丑文化社.
28. 韓藥調製資格取得本叢書2. 東醫學研究所 編著
29. 本草學. 東醫學研究所.
30. 本草學. 한국생약교수협의회 편저, 사단법인 대한약사회.
31. Mullally BH., James JA., Coulter WA., Linden GJ. : The efficacy of a herbal-based toothpaste on the control of plaque and gingivitis. 22:686, 1995
32. Daniela T. : Salvia officinalis L. I. Botanic characteristics, composition, and cultivation. Cesk Farm, 42(3) : 111-6, 1993
33. 송기범, 공영환, 유형근, 신형식. : 황련이 lipopolysaccharide를 처리한 치주인대 세포의 세포활성 및 IL-6 생산에 미치는 영향. 대한치주과학회지 Vol. 26, No. 3, 641-654, 1996
34. 장범석, 손성희, 정종평, 배기환. : Magnolol과 honokiol이 항균, 교원질 분해효소, 세포독성 및 cytokine생산에 미치는 영향. 대한 치주과학회지 Vol 23, No1:145-158, 1993
35. 양창호, 이용무, 조기영, 배기환, 정종평. : 대조추출분획이 치은 섬유아세포의 생물학적 활성 화에 미치는 영향. 대한치주과학회지 Vol 24, No1:144-153, 1994.

Effects of some herbal drugs on gingival fibroblast and periodontal ligament cellular activity

Jin-Soo Doo, Jung-Ku Kang, Hyung-Keun You, Hyung-Shik Shin
Department of Periodontology, School of Dentistry, Wonkwang University

Healing of periodontal tissues require the migration and proliferation of gingival fibroblasts and periodontal ligament cells. There is many evidences that the some agents like cytokines and polypeptide growth factors are mediate these cellular events in wound healing. Recently someone is interested in herbal drugs on periodontal tissue healing processes. The purpose of this study was to examine the effects of 4 herbal drugs, *Carthami Flis*, *Moutan Radicis Cortex*, *Scirpi Rhisoma*, Seed of *Carthamus tinctorius L.* on human gingival fibroblasts and periodontal ligament cells. Periodontal ligament cells and gingival fibroblasts were primarily cultured from extracted premolar with non-periodontal diseases. The powder from extracted herbal drugs were prepared with distilled water. Cells were cultured with DMEM at 37°C, 5% CO₂, 100% humidity incubator, and treated with each herbal drugs with proper concentration for 1, 2, and 3 days. The cell activity was determined by ELISA reader using MTT assay.

There was the most significant elevation in 10⁻³g/ml of almost herbal drugs on cellular activities. The result of this study demonstrated that *Carthami Flis*, *Moutan Radicis Cortex*, *Scirpi Rhisoma*, Seed of *Carthamus tinctorius L.* appears to have beneficial effect on healing process after periodontal treatment.