

우루소데옥시콜릭산이 치주질환 억제에 미치는 영향

박상현* · 한승민* · 최상묵* · 구 영* · 류인철* · 한수부*
이학모** · 김문무** · 김상년** · 정종평*

서울대학교 치과대학 치주과학교실*
LG화학 생활과학연구소**

I. 서론

치주질환의 원인은 치태, 특히 치은연하 치태세균에 의한 것으로 알려져 있으며^{1,3)} 치주질환 치료에 대한 연구는 이들을 효과적으로 제거하는 방법을 찾는 데 초점이 맞추어져 왔다. 기계적 혹은 외과적인 방법에 의한 치태세균의 조절은 치주치료에 기본이 되어 왔으며 치료의 효과를 높이기 위해 부가적인 약제의 사용이 추천되고 있다.

치태 세균중 그람 음성 혐기성 세균의 내독소, 생산독소 및 분해산물에 의한 조직면역학적 반응 및 염증반응의 결과로 치주질환이 진행되며^{4,6)}, 따라서 치주질환을 일으키는 원인균 관리를 통한 염증의 억제는 치주질환의 예방 및 치료에 중요한 요소로서 이에 대한 많은 연구가 이루어져왔다. 치태 형성을 억제하는 방법으로는 치면에서 세균집락화를 막는 장력작용 물질(tensioactive agents), 항균제(antiseptics)를 사용하거나 세균의 수를 감소시키는 항생제(antibiotics)와 치태의 간질을 분해하는 효소(enzyme)들과 세균의 대사를 방해하는 약제를 사용하는 방법이 이용되어져 왔다.

화학적 치태조절법으로 사용되어지는 약물로는 불화계주석(stannous fluoride), 클로르헥시딘(chlorhexidine), 과산화 수소(hydrogen peroxide), 염화아연(zinc chloride), sanguinarine, 오일류(lister-

ine)등과 생약성분인 후박, 대조, 은행추출물들이 연구되어져왔다⁹⁻¹¹⁾. 특히 클로르헥시딘이 substantivity에 기인하여 구강표면에 흡착하여 서서히 유리되기 때문에¹²⁾ 구강세정제로는 가장 널리 이용되고 있으나 Paunio¹³⁾과 Bassetti¹⁴⁾는 육아조직형성을 지연시킨다고 하였으며 다형핵백혈구에 대한 독성작용이 보고되기도 하였다¹⁵⁻¹⁶⁾. 치아와 혀에 착색과 작열감등의 부작용도 보고된 바 있으며, 치근면에 섬유아세포의 부착을 방해하여 치주조직 재생을 오히려 방해할 수 있다고 하는 등의 부작용이 지적되고 있다⁷⁾.

우루소데옥시콜릭 산(Ursodeoxycholic Acid, UDCA)은 친수성을 띠는 쓸개즙산으로 면역기능과 관련된 간질환에 효과적인 약물로 알려져 있다. 담석을 녹이는 이 쓸개즙산은 콜레스테롤의 합성억제와 담낭에 콜레스테롤의 분비 억제와 같은 대사에 관여하여 그 효과를 나타냈다³⁵⁾. 또 만성 알콜성 간염에서는 지질과산화(lipid peroxidation)과 항산화(antioxidant)작용에 결합을 보이는데 UDCA가 세포막을 안정화시켜 임상적 증상을 완화시키는 역할을 한다고 보고되었다²⁶⁾. 또한 이 약물은 면역조절 기능이 있는데 T세포로부터 IL-2, IL-4, IFN- γ 의 분비를 억제하며 B세포로부터 면역글로블린 생산을 억제한다¹⁸⁻²²⁾. UDCA는 치주질환의 염증의 진행과 관련된 중요한 요소인 IL-1- β 의 생산억제와 collagenase의

활성을 억제하는 것으로 보고되고 있다²³⁻²⁴⁾. 류²⁵⁾ 등은 UDCA와 생약혼합물을 9가지 농도로 분류하여 단핵세포에의 IL-1 β 의 생성에 미치는 영향과 치은 섬유아세포에서 UDCA함유물에 의한 PGE₂ 생산에 미치는 영향에 관한 연구를 통하여 우루소데옥시콜릭 산은 IL-1 β , PGE₂생성을 억제하며, collagenase의 활성도를 낮춘다고 보고하였다.

이 연구의 목적은 성견에서 UDCA함유물이 치주 질환 진행의 억제에 미치는 영향을 임상적, 미생물학적 및 조직계측학적 관찰을 통하여 알아보고자 하는 것이다.

II. 연구 재료 및 방법

1. 실험 동물

체중 13kg 내외의 생후 16개월된 12마리의 비글견 (Marshall Farms Inc., New York, U.S.A.)을 실험동물로 하였으며, 모두 임상적으로 치주질환이 없었다. 실험견들은 실험기간동안 각각 다른 우리에서 사육시켰으며 변화된 환경에 대한 2주간의 적응기간을 갖게한 후 실험을 시작하였다.

2. 실험 방법

실험시작 2주전에 2% 염산자일리진액(Rompun[®], 바이엘 코리아, 서울, 한국) 5mg/kg과 염산 케타민(케타라[®], 유한양행, 서울, 한국) 10mg/kg을 근육주사 하여 전신마취를 유도한 후 초음파 치석제거기(Dentsply DeTrey, Konstanz, Germany)와 그레이시 큐렛(Hu-Friedy Mfg. Inc., Illinois, U.S.A.)을 사용하여 치은연상 치석을 제거하고 연마제를 이용하여 치면세마를 실시하였다. 이 후 구강위생을 유지하기 위하여 매일 1회씩 이를 닦아주었다.

2주 후 다시 전신마취를 유도한 후 임상지수와 치은열구액을 측정하였고 미생물 검사를 시행하였으며 각 비글견의 좌우측 중 한쪽을 임의대로 선정하여 인위적 치주질환을 유발하기 위해 3-0 봉합사와 교정용 철사를 꼬아서 치경부에 결찰하였다. 결찰

치아는 상악 제 2, 3 소구치, 제 1 대구치와 하악 제 2, 3, 4 소구치, 제 1 대구치 치경부를 따라 치은열구속에 위치시켰다(Figure 1). 이후 치태형성을 촉진하기 위해 고히사료(서현초이스, 서현축산, 한국)에서 연식사료로 바꾸었다.

결찰후 실험견을 3마리씩 4개군으로 나누었으며 음성대조군으로는 약제가 함유되지않은 Base를 (BASE군), 양성대조군으로 0.1% 클로르헥시딘 용액(부광약품, 서울, 한국)을 사용했으며(CH군) 실험군으로 0.5%(0.5% UDCA군)와 5%(5%UDCA군)의 우루소데옥시콜릭 산을 함유한 껌을 각각 4주에서 8주 사이에 면에 묻혀 실험동물에 적용하였다.

4주와 8주째에 임상지수와 치은열구액을 측정하고 미생물 검사를 하였으며, 8주째에 경동맥을 통해 10% 중성 포르말린 완충용액을 주입하여 조직을 관류고정시킨 후 희생시키고 3주간 10% 중성 포르말린 완충용액이 담긴 용기 속에 보관하였다.

(1) 임상지수 측정

임상지수는 상악 제 2, 3 소구치, 제 1 대구치와 하악 제 2, 3, 4 소구치, 제 1 대구치를 대상으로 측정하였으며, 실험시작, 4, 8주째에 각 대상 치아의 근심 협측, 협측 중앙, 원심 협측부위에서의 치태지수(Plaque Index, Silnes and Løe, 1964)⁶⁾, 치은지수(Gingival Index, Løe and Silnes, 1963)⁷⁾를 측정하였으며, 치주 탐침(PCP 12, Hu-Friedy Mfg. Inc., Illinois, U.S.A.)을 사용하여 치주낭 깊이(Pocket Depth)를 측정하였다.

(2) 치은열구액 측정

치은열구액은 실험시작, 4, 8 주째에 상악 제 3 소구치와 하악 제 4 소구치에서 측정하였으며, 타액으로 인한 오염을 방지하기 위하여 해당부위를 거즈로 방습시키고 압축공기를 약하게 사용하여 건조시킨 후 Periopaper[®](ProFlow Inc., New York, U.S.A.)를 치주낭내에 30초간 삽입하였다가 꺼낸 후 Periotron[®] 8000(ProFlow Inc., New York, U.S.A.)으로 측정하였다.

(3) 치주낭내 미생물 검사

치은 연상 치태를 조심스럽게 제거하고 방습한 후, 실험시작 4, 8 주째에 상악 제 3 소구치와 하악 제 4 소구치에서 측정하였으며 #35 paper point(Sure Products Inc., 서울, 한국) 3개를 저항감이 느껴질 때까지 치은연하로 넣고 30초간 두었다 꺼내고 2ml의 VMGA III 용액이 들어있는 시험관에 넣고 2분간 vortex에서 균일하게 혼합하였다. 80% N₂, 10% CO₂, 10% H₂가 들어있는 37°C 혐기성 배양기(Laboratory products Inc., U.S.A.) 안에서 10배 단계 희석을 시행하였다. Streptococcus를 감별하기 위하여 100 μ l의 희석 용액을 선택배지(Mitis Salivarius Agar, Difco Lab., MI, U.S.A.)에 접종하고 혐기성 및 호기성 세균의 총 수를 파악하기 위하여 5% 가도혈액을 함유한 혈액 한천배지에 각각 접종하여 37°C 혐기성 배양기와 10% CO₂ 배양기에서 3-7일간 배양하였다.

(4) 조직의 처리 및 조직학적 관찰

고정된 조직을 Donath와 Breuner가 기술한 방법에 따라 비탈회표본을 제작하였다. 먼저 실험대상치아의 치간부가 포함되게 근원심 방향으로 다이아몬드 처리된 띠모양의 톱(Exakt-cutting grinding system, Exakt Apparateb, Hamburg, Germany)을 이용, 분리하여 시편의 두께가 2-3mm되게 절단하였다. 통법에 따라 탈수(50, 70, 90, 95, 100%의 에탄올과 자일렌을 이용, 이 중 100%의 에탄올에는 3일간, 나머지는 2일간을 4°C 에서 교반시킴)시킨 후 spurred low-viscosity embedding media(Osteo-bed[®] bone embedding solution, Polyscience Inc., Warrington, PA, U.S.A.)를 이용하여 포매하였다. 포매는 3단계로 나누어 실시하였는데, 1단계는 유리병에다 포매액만 넣고, 2단계는 포매액에다 촉매제(benzoyl peroxidase)를 1.0 w/v%만큼 섞은 용액으로 하였다. 1, 2단계의 포매는 2일에 한 번씩 액을 교환해주면서 4°C 냉장실에서 교반하면서 실시하였다. 3단계는 촉매제를 2.5 w/v%만큼 섞은 포매액에 담구어 실온에서 하루동안 둔 후 다음날 35°C의 진공 오븐 (25psi)에서 1일간 두었다가 이후 55°C에서 4일간 두어 완전

히 경화시켰다. 1, 2와 3단계의 포매 과정은 플라스틱 주사기를 이용하여 진공을 형성한 상태에서 실시하였다. 중합이 완료된 시편이 든 유리병은 -70°C의 냉동실에 20분간 두었다가 종이타일로 싼 다음, 망치를 이용하여 깨뜨려 포매가 완성된 블록을 얻었다. 블록을 적당한 부위까지 연마한 다음 그 반대편도 처음 면과 평행하게 갈아내었다. 이렇게 만든 블록을 플라스틱 슬라이드에 시아노아크릴레이트로 접착시키고 압력을 가한 상태로 24시간 두었다. 블록이 붙은 슬라이드를 Exakt-micro grinding system (Exakt Apparateb, Hamburg, Germany)으로 연마하여 슬라이드면과 블록의 반대면이 완전히 평행이 되게 하였다. 또 다른 플라스틱 슬라이드를 Exakt-precision adhesive system을 이용하여 블록이 붙은 슬라이드와 평행하게 시아노아크릴레이트로 고정하여, 블록을 사이에 두고 고정된 평행한 두 개의 슬라이드를 얻었다. 먼저 고정된 슬라이드는 Exakt-cutting and grinding system의 진공장치에다 연결하여 단단히 고정시킨 후 두께가 약 100 μ m 정도가 되게 절단하였다. 절단된 표본은 Exakt-micro grinding system에다 800, 1200, 2500, 4000 사포를 차례로 이용하여 연마한후 최종적으로 두께 20 μ m의 매끈하고 얇은 표본이 얻어지게 하였다. 연마 후 multiple 염색법으로 염색하고 광학 현미경(Olympus BH-2, Olympus Co., Tokyo, Japan)으로 조직 소견을 관찰하였다(Figure 2). 조직 계측학적 분석을 위하여 광학현미경하에서 2.5배 배율로 확대된 조직 표본 상을 Digital Color Camera(SDC-4304PF, Samsung Co., Seoul, Korea)를 통해서 컴퓨터 모니터 상에 재현한 후 컴퓨터 프로그램(Bildana-lyssystem AB, Sweden)을 이용하여(Figure 3) 2.5배로 백악법량경계부를 이은 선에서 치조정 간의 거리를 측정하였다.

(5) 통계

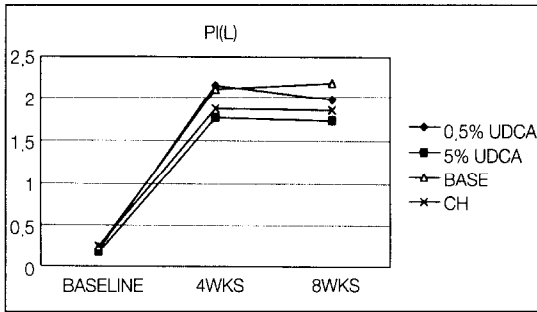
각 주에 따른 약제간의 효과비교는 ANOVA test와 Scheffe의 다중분석법을 사용하였고, 각각의 약제의 기간에 따른 효과의 유의성 검증은 paired t-test를 사용하여 분석하였다.

III. 연구성적

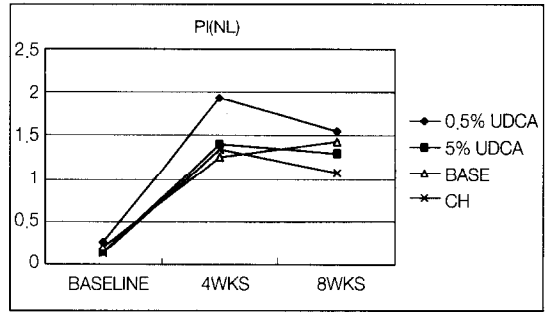
1. 임상지수검사

(1) 치태지수

결찰군 및 비결찰군에서 인위적으로 치주질환을 유발한 4주까지는 치태지수가 유의성 있게 증가하다가($P < 0.05$) 4주에서 8주까지 약제를 도포한 세 군에서는 지수의 감소경향을 보였으나 BASE만 도포한 군에서는 계속 증가하는 양상을 보였다. 비결찰군 중 0.5%UDCA군에서 치태 지수의 감소가 가장 컸다 (Figure 4).



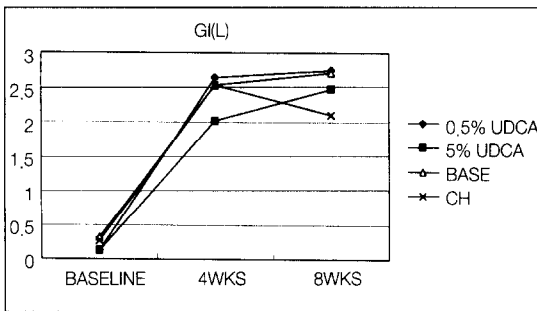
(a)



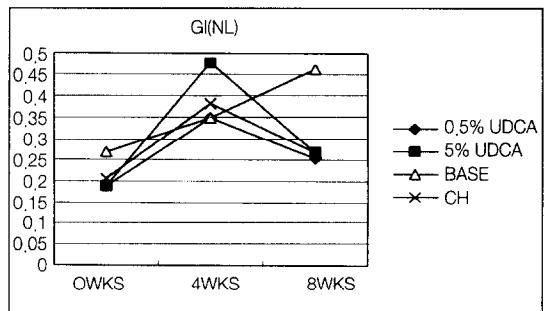
(b)

PI: Plaque Index
L: ligature
NL: non-ligature

Figure 4. 약제의 도포의 시간경과에 따른 치태지수의 변화
(a)결찰군 (b)비결찰군



(a)



(b)

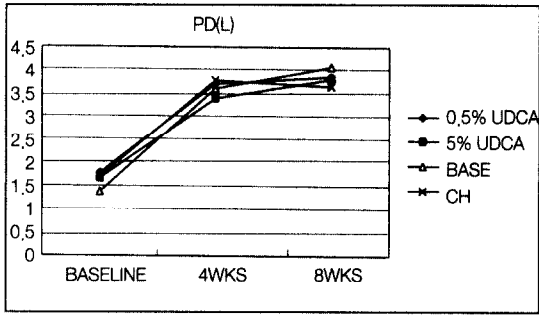
GI: Gingival

Figure 5. 약제도포의 시간 경과에 따른 치은지수의 변화

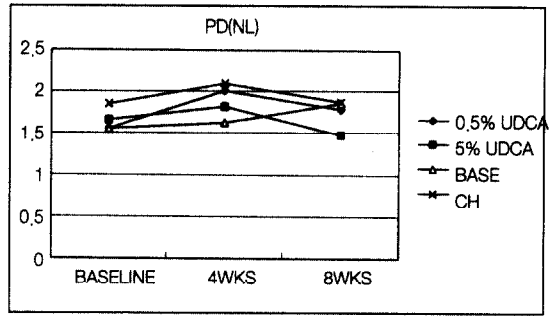
(2) 치은 지수

결찰 군에서 4주까지는 모든 군에서 지수가 유의성 있게 증가하였다($P < 0.05$). 4주에서 8주 사이에는 클로르헥시딘군만 2.52에서 2.11로 감소하였고 나머지 군에서는 조금 증가하였으나 유의성은 없었다 ($P > 0.05$). 비결찰군에서 각 군간에 유의한 차이는 없었으나 약제를 바른 군에서는 감소하는 경향을 보이고, BASE만 바른 군에서는 증가하는 경향을 보였다. 5% UDCA군에는 4주째 0.48에서 8주에 0.27로 가장 크게 감소하였다(Figure 5).

(3) 치주낭 깊이



(a)



(b)

PD: Pocket

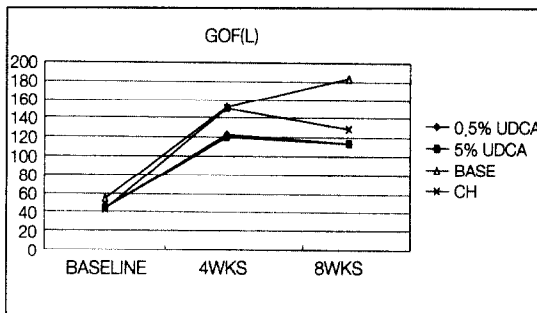
Figure 6. 약제도포에 따른 치주낭 깊이의 변화

(a) 결찰군 (b) 비결찰군

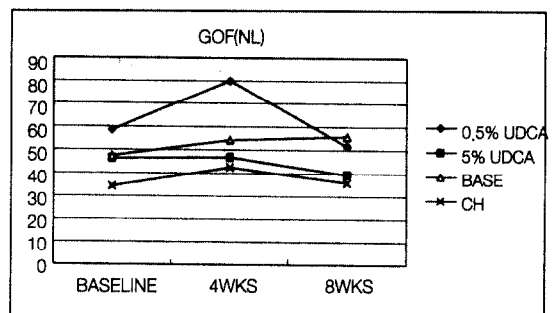
Table 1. 시간 경과에 따른 치주낭 깊이에 대한 약제의 효과

	비결찰군			결찰군		
	실험시작	4주	8주	실험시작	4주	8주
0.5%UDCA	1.56±0.23	2.00±0.23	1.78±1.61	1.76±0.33	3.68±0.38*	3.84±0.60
5%UDCA	1.65±0.18	1.81±0.19	1.47±0.46	1.67±0.00	3.38±0.61*	3.78±0.70
BASE	1.56±0.27	1.62±0.06	1.86±0.42	1.38±0.33	3.57±0.08*	4.04±0.52
CH	1.84±0.42	2.09±0.46	1.87±0.56	1.68±0.23	3.76±0.18*	3.61±0.25

*: 실험시작보다 통계학적 유의성이 있음(P<0.05).



(a)



(b)

GCF: Gingival Crevicular Fluid

Figure 7. 약제 도포에 따른 치은열구액의 양

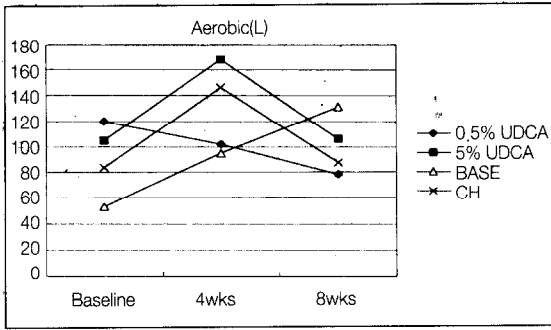
(a) 결찰군 (b) 비결찰군

결찰군에서는 4주까지 모든 군에서 2mm 정도의 치주낭 깊이의 유의한 변화가 있었고(P<0.05) 8주까지는 유의한 변화가 없었다. 비결찰군에서는 0주에서 8주까지 유의한 차이는 없었으나, base만 도포한 군에서만 지속적인 치주낭 깊이의 증가를 보였고 나

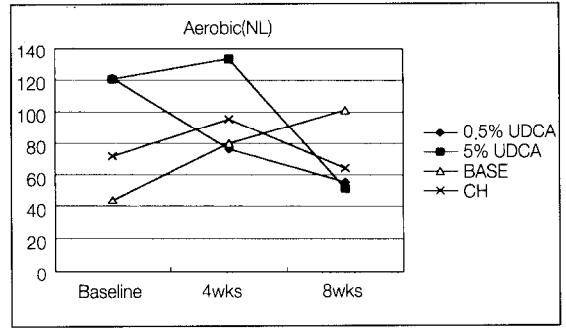
머지 군에서는 4주에서 8주 사이에 감소하는 경향을 보였다(Figure 6) (Table 1).

(4) 치은열구액의 양

결찰군에서 4주에서 8주 사이에 BASE만 도포한

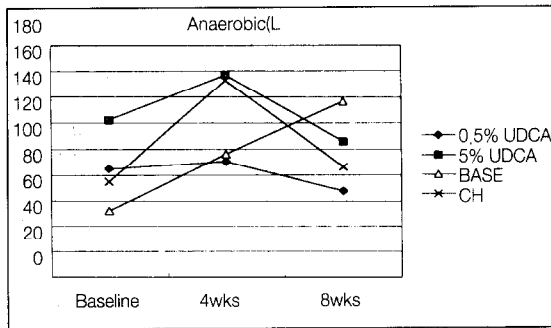


(a)

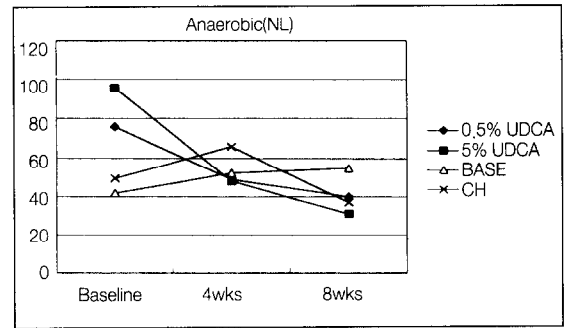


(b)

Figure 8. 호기성 세균의 총수
(a)결찰군 (b)비결찰군

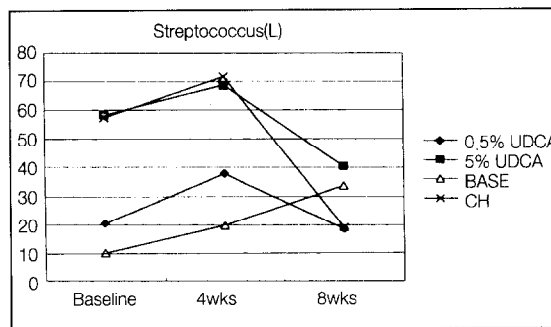


(a)

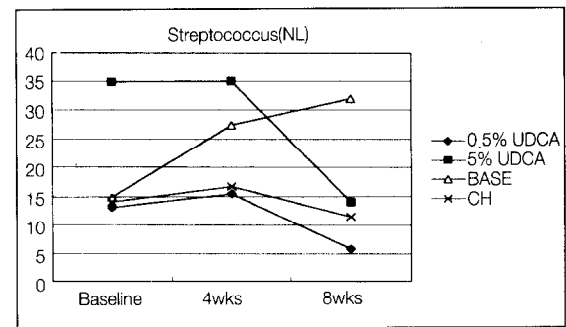


(a)

Figure 9. 혐기성 세균의 총수
(a) 결찰군 (b) 비결찰군



(a)



(a)

Figure 10. Streptococcus의 수
(a) 결찰군 (b) 비결찰군

Table 2. 약제의 시간경과에 따른 호기성 세균의 총수의 변화

	비결찰군			결찰군		
	실험시작	4주	8주	실험시작	4주	8주
0,5%UDCA	120,83±66,68	76,17±36,38	55,33±44,77	119,83±15,46	102,17±36,49	78,33±24,85
5%UDCA	120,33±61,76	133,33±63,26	51,50±25,24*	104,67±55,75	168,00±65,82	106,67±56,29*
BASE	44,00±16,02	79,67±37,17	101,17±41,73	53,17±45,44	95,33±36,50	131,33±18,11
CH	72,00±20,02	95,33±12,49	64,50±11,71	83,50±34,36	146,17±26,96	87,67±58,81

*:4주보다 통계학적 유의성이 있게 감소

Table 3. 약제의 시간경과에 따른 혐기성 세균의 총수

	비결찰군			결찰군		
	실험시작	4주	8주	실험시작	4주	8주
0,5%UDCA	75,67±13,58	48,83±10,73	39,83±12,86	85,00±10,82	91,00±18,43	67,67±17,42
5%UDCA	95,83±18,11	48,33±20,75	31,67±25,45	122,50±21,28	157,33±36,30	105,50±23,54
BASE	41,83±12,74	52,33±19,25	54,83±21,83	52,00±21,17	96,50±28,20	136,17±27,59
CH	49,50±26,84	65,67±26,14	37,00±34,87	74,83±55,85	152,67±26,86	86,17±53,28

군에서 151,3에서 183,3으로 크게 증가하였고 (P<0,05) 나머지 세 군 즉, 0,5%UDCA군에서는 123에서 114로, 5%UDCA군에서는 120에서 114로, CHX군에서는 150에서 128로 모두 감소하였다. 비결찰군에서는 4주에서 8주 사이에 0,5%UDCA군에서 92에서 52로 가장 많이 감소하였다(Figure 7).

2. 미생물학적 검사

(1) 호기성 세균의 수

결찰군과 비결찰군 모두에서 BASE만 도포한 군에서 4주, 8주동안 계속 호기성 세균의 총수가 증가하였고 5%UDCA가 4주에서 8주 사이에 가장 많이 감소하였다. 결찰군에서 168에서 106으로 감소하였고 비결찰군에서 133에서 51로 통계학적 유의성이 있게 감소하였다(P<0,05). 0,5% UDCA군에서는 결찰, 비결찰군 모두에서 4주, 8주에 계속 감소하였다(Figure 8)(Table 2).

(2) 혐기성 세균의 수

결찰, 비결찰군 모두에서 BASE만 도포한 군에서

는 혐기성 세균의 총수가 계속 증가하는 경향을 보였다. CH군에서 4주에서 8주의 변화가 결찰군에서 153에서 86으로, 비결찰군에서 66에서 37로 두 군 모두에서 유의성 있게 감소하였다(P<0,05). 5%UDCA군에서 4주에서 8주의 변화가 결찰군에서 157에서 105로, 비결찰군에서 48에서 31로 각각 감소하였다. 0,5%UDCA군에서 4주에서 8주의 변화가 결찰군에서 91에서 68로 비결찰군에서 49에서 39로 감소하였다(Figure 9)(Table 3).

(3) Streptococcus의 수

결찰, 비결찰군 모두에서 BASE만 도포한 군에서는 Streptococcus의 수가 계속 증가하는 경향을 보였다. CH군에서 4주에서 8주의 변화가 결찰군에서 72에서 19로 유의성 있게 감소하였고(P<0,05), 비결찰군에서 17에서 12로 감소하였다. 5% UDCA 군에서 4주에서 8주의 변화가 결찰군에서 69에서 40으로, 비결찰군에서 35에서 14로 각각 감소하였다. 0,5%UDCA군에서 4주에서 8주의 변화가 결찰군에서 38에서 18로, 비결찰군에서 15에서 6으로 감소하였다(Figure 10).

3. 조직계측학적검사

인접한 두 치아의 백악법랑 경계부를 연결한 선에서 치조정까지의 거리를 측정한 결과는 BASE만 도포한 군 중 비결찰군에서 999.56 μm , 결찰군에서 2561.33 μm 로 가장 거리가 멀었고 비결찰군에서는 0.5%UDCA 군에서 944.15 μm 로 가장 가까웠으며 결찰군에서는 5%UDCA 군에서 2245.32 μm 로 가장 가까웠다. 그러나 네 군 모두에서 통계학적 유의한 차이는 없었다($P>0.05$)(Figure 11)(Table 4).

IV. 총괄 및 고안

염증성 치주질환에서 치태는 가장 중요한 원인이며 치태 세균은 숙주에서 다양한 면역 및 염증반응을 일으킨다. 이 염증 반응 중에 많은 부분들은 히스타민(histamine), 키닌(kinins), 피브린 펩타이드(fibrin peptide) 같은 매개물에 의하여 유도되어진다. 다른 염증반응은 Arachidonic acid cascade의 cyclo-oxygenase와 lipooxygenase의 경로의 매개물에 의하여 유도되어지는 것으로 알려져 있다³⁶⁾. Arachidonic acid cascade의 cyclooxygenase 경로의 대사산물로는

endoperoxidase, thromboxane, prostacyclin, prostaglandin들이 있다. 특히 PGE₁과 PGE₂는 장기간의 매개물로 염증진행에 많은 영향을 미치며³⁷⁾ 골흡수에도 관여하는데 PGE₂는 파골세포를 활성화시키고⁴⁰⁾ 대식세포에서 collagenase의 생산과 분비를 증가시킨다. Prostacyclin은 혈관 확장제로서 히스타민과 브라디키닌에 의해서 유발되는 부종을 강화시키는 역할을 하며 화학주성(chemotaxis)을 방해한다³⁸⁾.

우루소데옥시콜릭 산은 단핵세포와 대식세포에서 IL-1- β 의 분비를 억제하는 작용과 B세포에서의 면역글로블린생산을 억제하는 기능을 가지고 있다. 이전의 연구에서 세포단계에서 IL-1 β , PGE₂생성을 억제하며, collagenase 활성도를 낮춘다고 보고되고 있다. 우루소데옥시콜릭 산에 의한 대식세포 또는 단핵세포로부터의 IL-1 β 의 생산 억제는 글루코코르티코이드 수용기 매개회로에 의해 일어난다. 이러한 기능에 대해 정확한 작용 기전이 밝혀져 있지 않지만 면역 억제기능이 있는 글루코코르티코이드와 관련이 있는 것으로 생각되어진다³⁹⁾.

이 연구에서는 성견에서 인위적으로 치주질환을 유발시킨후 우루소데옥시콜릭 산의 염증진행 억제 효과를 보고자하였는데 약물의 투여방법에는 전신

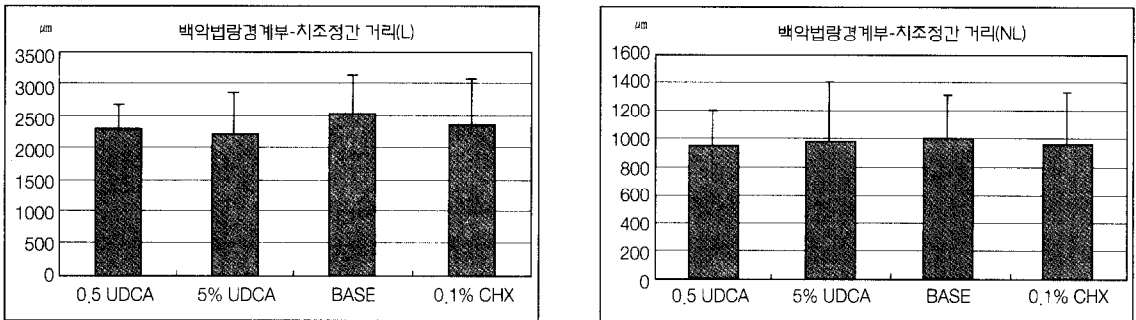


Figure 11. 백악 법랑 경계부에서 치조정간의 거리
(a)결찰군 (b)비결찰군

Table 4. 백악법랑경계부와 치조정간의 거리

단위: μm

	0.5%UDCA	5%UDCA	BASE	CH
비결찰군	944.15 ± 253.13	980.26 ± 351.25	999.56 ± 323.46	959.59 ± 382.56
결찰군	2304.19 ± 345.41	2245.32 ± 625.38	2561.33 ± 561.03	2553.62 ± 734.43

적 부작용이 적고 약물의 투여효과가 확실한 국소 약물 도포법을 시행하였다³⁰⁻³¹⁾. 양성대조군으로는 이미 치주질환의 치료 약물로 널리 사용되고 있는 클로르헥시딘을 사용 하였다. 임상 지수 검사결과 치태지수에서 0.5% UDCA가 비결찰군에서 양성 대조군보다도 더 많은 감소를 보였고 치은 지수는 5% UDCA가 클로르헥시딘보다 더 좋은 결과를 보였다. 치주낭의 감소에 대한 관찰은 실험기간이 너무 단기간이어서 큰 차이를 관찰 할 수 없었다. 치은열구액의 양은 혈관의 투과성에 의존하며 치은 염증의 정도에 비례하여 증가하며³²⁻³⁴⁾ 이 실험에서 0.5% UDCA가 염증의 감소에 가장 효과적인 것으로 나타났다. 또한, 약제사용에 따른 치은 열구액내의 효소나 내용물의 변화에 대한 분석이 더 있어야 될 것으로 사료된다.

치주질환의 주요 원인인 치태세균에서 분비된 내독소(endotoxin) 같은 독성물질은 대식세포로부터 IL-1- β 를 유리시키고²⁷⁻²⁸⁾ 이 물질이 치은 및 치주인대 섬유아세포로부터 PGE₂와 콜라게나제를 생성, 분비하게 하여 치주조직의 파괴가 일어난다²⁹⁾. 치태 세균 중에서 혐기성 세균에서 유리되는 독성 물질이 치주 조직을 가장 많이 파괴시키는 것으로 알려져 있는데 이 연구에서 혐기성 세균의 총 수를 관찰한 결과 0.5%, 5% UDCA를 도포한 군은 클로르헥시딘을 도포한 군과 유의한 차이 없이 세균의 수를 감소시킨 것으로 나타났는데 이는 우루소데옥시콜릭 산이 항균제로 현재 가장 널리 사용되는 클로르헥시딘과 유사한 항균효과를 가지고 있음을 보이는 것이다.

우루소데옥시콜릭 산의 골흡수 억제효과를 관찰한 결과는 유의한 차이가 없었지만 결찰, 비결찰군에서 5%, 0.5% UDCA를 도포한 군에서 가장 적게 골흡수가 일어난 것을 알 수 있다. 골흡수는 프로스타글란딘(prostaglandin)에 의한 보체의 활성화에 의해서 유발되며 활성화된 임파구들은 파골세포 활성화물질(Osteoclastic Activating Factor)을 생산하게 되어 골흡수를 유발하는데³⁹⁻⁴⁰⁾, 우루소데옥시콜릭 산이 프로스타글란딘의 생성 억제를 통하여 골흡수가 억제된 것으로 보여진다²⁹⁾. 골흡수에 대한 평가는 향후 공제영상방사선촬영법을 이용한 장기간 관찰을 통해 더 명

확한 검정이 이루어져야 할 것으로 생각된다.

이상의 임상적, 미생물학적 및 조직계측학적 실험 결과를 통하여 UDCA는, 현재 가장 효과적인 항균제로 알려진 클로르헥시딘과 유사한 염증억제 효과가 있음을 알 수 있었고 향후 임상시험을 거쳐 안전성과 유효성이 검증된다면 치주질환 진행 억제제로 임상에서 사용될 수 있을 것이라고 기대된다.

V. 결론

12마리의 비글견에 0.5%UDCA, 5% UDCA, base 군, 클로르헥시딘군으로 분류하고 결찰군, 비결찰군에 도포하여 치주질환의 염증 억제효과를 보기 위해 임상적, 미생물학적 및 조직계측학적으로 관찰한 결론은 다음과 같다.

1. 약제를 바른 세 군에서는 치태지수, 치은지수와 치주낭 깊이가 4주까지 증가 하다가 8주에서 감소하는 경향을 보였으나 약제를 바른 세 군간에는 유의한 차이가 없었다(P<0.05).
2. 결찰군에서 0.1% 클로르헥시딘을 제외한 세 군에서는 치주낭의 감소를 보이지 않았다.
3. 비결찰 군에서 0.5% UDCA가 치은열구 액의 양을 가장 현저하게 감소시켰다.
4. 5% UDCA를 처리한 군에서 혐기성, 호기성세균의 수가 가장 많이 감소하였다.
5. 백악법랑경계부에서 치조정간의 거리측 정을 통한 치조골 흡수에 미치는 영향을 관찰한 결과, 결찰군과 비결찰군 모두에서 UDCA의 치조골 파괴 억제효과가 나타났으나 통계학적 유의성은 없었다(P>0.05).

IV. 참고문헌

1. Carranza, F.A.:Glickman's clinical periodontology. 6th ed., The W.B. Saunders Co., 361-390,1984.
2. Socransky, S.S.:Microbiology of periodontal disease-present status and future considera-

- tion, J. Periodontol., 48:497-504, 1977.
3. Newman, M.G.: Current concepts of the pathogenesis of periodontal disease. Microbiology emphasis. J. Periodontol., 734-739, 1985.
 4. Gillett, R. Johnson, N.W.: Bacterial invasion of the periodontium in case of juvenile periodontitis. J. Clin. Periodontol., 9:93, 1982.
 5. Loesche, W.J. Syed, S.A., Laughon, B.E. Stoll, J.: The bacteriology of acute necrotizing ulcerative gingivitis. J. Periodontol., 53: 223, 1982.
 6. Slots, J., Genco, R.J.: Black pigmented bacteroides species, Capnocytophaga species and A.a. in human periodontal disease: Virulence factors in colonization, survival and tissue destruction. J. Dent. Res., 63:412, 1984.
 7. Loe, H., Silness, J.: Periodontal disease in pregnancy. I. Prevalence and severity. Acta Odontol. Scand., 21: 533, 1963.
 8. Silness, J., Loe, H.: Periodontal disease in pregnancy. II. Correlation between oral hygiene and periodontal condition. Acta Odontol. Scand., 22: 121, 1964.
 9. 이승렬, 정종평, 최상목, 배기환: 천연물 추출물의 치주병인균에 대한 항균효과 및 세포독성에 관한 연구, 대한치주과학회지 Vol 22, No 3, 1992.
 10. 조기영, 최상목: 생약추출물이 Interleukin-1 β 의 생성 및 활성화에 미치는 영향. 대한치주과학회지 Vol 25, No 2, 1995.
 11. 양창호, 이용무, 조기영, 배기환, 정종평: 대조추출물 분획이 치은 섬유아세포의 생물학적 활성화에 미치는 영향. 대한치주과학회지 Vol 24, No 1, 1994.
 12. Greenstein, Gary., Berman, Charles., Jaffin, Robert.: Chlorhexidine. An adjunct to periodontal therapy. J. Periodontol., 57: 370-377, 1986.
 13. Paunio, K., Knuttila, M., Mielityinen, H.: The effect of chlorhexidine gluconate on the formation of experimental granulation tissue. J. Periodontol., 49: 92, 1978.
 14. Bassetti, C., Tallenburger, A.: Influence of chlorhexidine rinsing on the healing of oral mucosa and osseous lesion. J. Clin. Periodontol., 7:443, 1980.
 15. Gabler, W., Bullock, W., Creamer, H.: The influence of chlorhexidine on superoxide generation by induced human neutrophils. J. Periodont. Res., 22: 445, 1987.
 16. Watts, T., Addison, T., Johnson, B.: Effects of chlorhexidine solution on neutrophil locomotion in vitro. J. Dent. Res., 17: 287, 1989.
 17. Alleyn, CD., O'Neal, RB., Strong, SL., Scheidt, MJ., Van Dyke, TE., McPherson, JC.: The effect of chlorhexidine treatment of root surfaces on the attachment of human gingival fibroblasts in vitro. J. Periodontol., 62: 434-438, 1991.
 18. Tanaka, H., Makino, Y., Miura, T., Hrano, F., Okamoto, K., Komura, K., Sato, Y., Makino, I.: Ligand-independent activation of the glucocorticoid receptor by UDCA. Repression of the IFN-gamma induced HMC class II gene expression via a glucocorticoid receptor-dependent pathway. J. Immunol., 156: 1601-1608, 1996.
 19. Yoshikawa, M., Tsujii, K., Matsumura, J., Yamao, Y., Kubo, H., Isizaka, S.: Immunomodulatory effects of UDCA on immune response. Hepatol., 16: 358, 1992.
 20. Calmus, Y. P., Gane, P., Rouger and R. Poupon: Hepatic expression of class I or class II major histocompatibility complex molecules in biliary cirrhosis: effect of UDCA. Hepatol., 16: 358, 1990.
 21. Calmus, Y., Guehot, J., Podevin, P., Bonnefils, MT., Giboudeau, J., Poupon, R.:

- Differential effects of chenodeoxycholic and UDCA on IL-1, IL-6 and TNF- α production by monocytes. *Hepatology*, 16: 719-723, 1992.
22. Lacadle, F., K Paradis, K.: The immunosuppressive effect of UDCA: comparative in vitro study on human peripheral blood mononuclear cells. *Hepatology*, 18: 165, 1993.
 23. Calmus, Y., Weill, B., Ozier, Y., Chereau, C., Houssin, D., Poupon, R.: Immunosuppressive properties of chenodeoxycholic and ursodeoxycholic acids in the mouse. *Gastroenterology*, 103:617, 1992.
 24. Boupass, D., Pallogianni, T. F., Anastssious, D., Balow, J. E.: Glucocorticoid action on the immune system: molecular and cellular aspects. *Clin. Exp. Rheumatol.*, 9:413, 1991.
 25. 류인철, 김상년, 정종평: UDCA를 함유한 생약 추출물 혼합제제의 항염효과에 관한 연구. *대한치주과학회지* Vol 26 No 4, 1013-1020, 1996.
 26. Preobrazhensk VN., Taianovskii Vlu.: Efficacy of UDCA in treatment of chronic alcoholic hepatitis. *Klin. Med.*, 76:26-28, 1998.
 27. Matsuki, Y., Yamamoto, T., Hara, K.: Detection of inflammatory cytokine messenger RNA (mRNA)-expressing cells in human inflamed gingiva combines in situ hybridization and immunohistochemistry. *J. Immunol.*, 76:42-47, 1996.
 28. Richards, D., Rutherford, R. B.: 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.
 29. Offenbacher, S., Heasman, P. A., Collins, J. G.: Modulation of host PGE secretion as a determinant of periodontal disease expression. *J. Periodontol.*, 64:432-444, 1993.
 30. Klinge B, Kuvatanasuhati J., Altstrom R., Kalfas S., Edwardsson S.: The effect of topical metronidazole therapy on experimentally-induced periodontitis in the beagle dog. *J. Clin. Periodontol.*, 19:702-707, 1992.
 31. Williams RC., Jeffcoat MK., Howell TH.: The topical flurbiprofen treatment of periodontitis in beagles. *J. Periodont. Res.*, 23: 166-169, 1988.
 32. Loe, H., Holm-Pedson, P.: Absence and presence of fluid from normal and inflamed gingivae. *Periodontics*, 3:171-177, 1965.
 33. Brex, M. C., Schoegel, K., Gehr, P., Lang, N. P.: Comparison between histological and clinical parameters during human experimental gingivitis. *J. Periodont. Res.*, 22:50-57, 1987.
 34. Darany, D. G., Beck, J. M., Walters, J. D.: The relationship of gingival fluid leukocyte elastase activity to gingival fluid rate. *J. Periodontol.*, 63:743-747, 1992.
 35. Miettinen TE., Tarpilia S., Gylling H.: The effects of UDCA on serum and biliary noncholesterol sterols in patients with gallstone. *Hepatology*, 25:514-518, 1997.
 36. Richard I. Vogel: The experimental use of anti-inflammatory drugs in the treatment of periodontal disease. *J. Periodontol. Spc*:88-92, 1985.
 37. Vane, J.: Prostaglandins as mediators of inflammation. *Adv. Prostaglandin Thromboxane Res.*, 2:791, 1976.
 38. Weksler, B., Knaffe, J., Jaffe, E.: Prostacyclin synthesized by cultured endothelial cells modulates polymorphonuclear leukocyte function. *Blood*, 50:287, 1977.
 39. Sandberg, A., Raisz, L., Goodson, J.: Initiation of bone resorption by the classical and alternative C pathways and its mediation by prostaglandin. *J. Immunol.*, 119:1378, 1977
 40. Yoneda, T., and Mundy, G.: Monocyte regulate osteoclast activating factor production by releasing prostaglandins. *J. Exp. Med.*, 150:338, 1979.

사진부도 설명

Figure 1. 비글전에서 치은의 임상사진

- a) 비결찰군의 모습
- b) 결찰군의 모습

Figure 2. 비글전의 8주째 조직 표본

- a) 비결찰군의 비탈회 표본(multiple 염색, ×5)
- b) 결찰군의 비탈회 표본(multiple 염색, ×5)

Figure 3. 조직계측학적 분석

Digital Color Camera(SDC-4304PF, SamSung Co., Seoul, Korea)를 통하여 Image Acess-Analysis (Bildanalyssystem AB., Sweden) 프로그램을 사용하여 백악법랑경계부에서 치조정간 의 거리를 측정하는 모습.

CEJ: 백악법랑경계부(위쪽 빨간선)

AC: 치조정 (아래쪽 빨간선)

*약어

CEJ: 백악법랑경계부

AC: 치조정

L: ligature wire w/ silk

사진부도



Figure 1a



Figure 1b

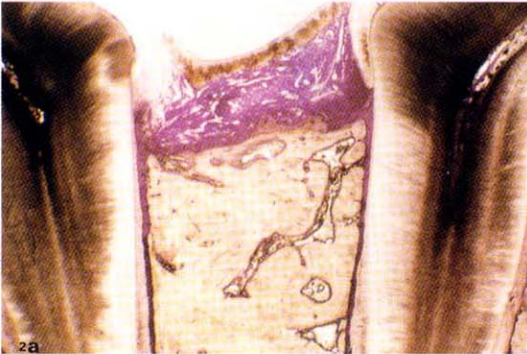


Figure 2a

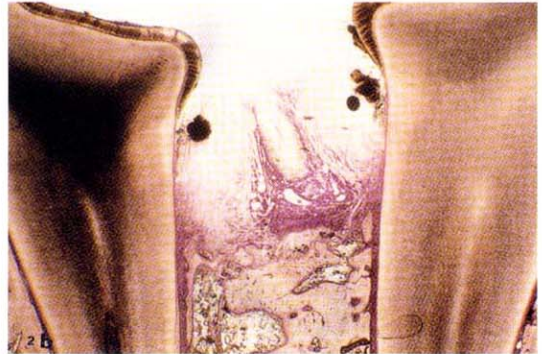


Figure 2b



Figure 3

A Short-Term Study of the Effects of UDCA on Gingival Inflammation in the Beagle Dog

Sang-Hyun Park*, Seoung-Min Han*, Sang-Mook Choi*, Young Ku*, In-Chul Rhyu* Soo-Boo Han*,
Hak-Mo Lee**, Moon-Moo Kim, Sang-Nyun Kim** and Chong-Pyoung Chung*

*Department of Periodontology, College of Dentistry, Seoul National University

**LG Household and Health

Ursodeoxycholic acid(UDCA) is a hydrophilic gall bladder acid and has been used as a effective drug for liver disease related to immunity. This drug inhibits secretions of IL-2, IL-4, and IFN- γ from T-cells and production of immunoglobulin from B-cells. Also it has been reported that UDCA inhibits production of IL-1 related to the progression of periodontal disease and activation of collagenases. The purpose of the present study was to elucidate the effects of UDCA on inhibition of periodontal disease progression using clinical, microbiological and histometrical parameters.

Twelve pure bred, 16 month-old-beagle dogs were used in the study. After ligature-induced periodontal diseases were formed, experimental drugs were applied twice a day and then the results of clinical, microbiological, and histometrical parameters were measured at baselie(initiation of experiment) , 4weeks and 8weeks. The gel with UDCA(concentration 0.5%, 5% 3 dogs in each) was applied to experimental group, chlorhexidine to positive control group(3dogs) and the gel without UDCA(base) to negative control group. After induction of general anesthesia, the maxillary 2nd, 3rd premolars and 1st molar and the mandibular 2nd, 3rd, 4th premolars and 1st molar were ligated in one side selected randomly and were not ligated in the opposite side. The plaque index(PI), gingival index(GI), pocket depth(PD) and gingival crevicular fluid(GCF) volum were measured clinically. The PI and GI were measured at 3 buccal points of all experimental teeth and the GCF was measured only at the 3rd premolar in the maxilla and the 4th premolar in the mandible. In the microbiological study, the samples extracted from the 3rd premolar of the maxilla and the 4th premolar of the mandible at the center of buccal surface were analyzed aerobics, anaerobics and Streptococcus colony forming units. After clinical and microbiological examination at 8weeks, the dogs were sacrificed by carotid artery perfusion. The samples were fixed and sectioned including interproximal area, and the distance from cementoenamel junction(CEJ) to alveolar crest was measured. The results were that PI, GI and PD increased until 4 weeks and decreased at 8 weeks in three groups but the differences between all the groups were not significant. The 0.5% UDCA in non-ligated group showed remarkable decrease of GCF. The experimental group applied 5% UDCA decreased the number of aerobics and anaerobics. The distance from CEJ to alveolar crest was greater in the negative control group on both ligated and non-ligated sides, but the differences were not significant statically.

Key words : ursodeoxycholic acid, Beagle dog studies, ligature and non-ligature induced periodontitis, clinical and microbiological analysis, histomorphometry.