

A-3 Chlorhexidine과 Listerine이 치은섬유모세포의 활성화에 미치는 영향

강정구* · 신형식

원광대학교 치과대학 치주과학교실

I. 연구목적

치태조절을 위한 화학적 치태 조절법에는 구강함수법이나 치주낭내의 직접 세척법 등이 있는데, 사용되는 약제로 chlorhexidine과 Listerine이 최근 가장 많이 이용되고 있다. 본 연구의 목적은 대부분의 구강내 세균의 살균 및 통상의 함수시간인 30초와 구강내 잔류시간인 1시간으로 분류하여 각 농도별로 chlorhexidine과 Listerine을 치은 섬유모세포에 가한 후 3일간 배양하여 치은 섬유모세포의 활성도를 MTT법으로 조사하여 치주창상의 치유에 있어 chlorhexidine과 Listerine이 치은 섬유모세포의 활성도에 미치는 영향을 평가하기 위함이다.

II. 연구재료 및 방법

1. 연구재료

- 1) Chlorhexidine gluconate와 Listerine의 준비
- 2) 치은 섬유모세포의 배양

2. 연구방법

1) Chlorhexidine과 Listerine이 치은 섬유모세포의 형태에 미치는 영향
0.0012, 0.006, 0.012, 0.06 그리고 0.12% 농도의 chlorhexidine과 1, 5, 10, 50 및 100% 농도의 Listerine을 각 24-well plate의 각well에 30초와 1시간동안 가한 후 HBSS로 2회 세척한 후 배양액을 가하여 3일간 배양하였다. 배양 후 이를 각 약물의 농도별로 분류한 다음 도립현미경을 이용하여 세포의 형태를 관찰하였다.

2) Chlorhexidine과 Listerine이 치은 섬유모세포의 활성화에 미치는 영향 실험 전일 분주한 치은 섬유모세포는 상기 농도의 chlorhexidine과 Listerine을 30초와 1시간 동안 가한 후 각기 1, 2 그리고 3일간 배양한 후, 세포활성을 측정하기 위해 생리식염수에 용해한 MTT용액 50 μ l를 각 well에 넣고 4시간동안 배양 후 MTT용액을 버리고, DMSO를 50 μ l씩 첨가하여 formazan 결정을 용해시킨 후 세포활성도의 측정을 위해 96-well plate상으로 옮겼다. Plate를 잘 흔든 후 ELISA analyser에서 630nm를 기준으로 570nm에서 흡광도를 측정하였다. 실험은 각 군마다 4배수로 시행하였으며, 매 실험마다 실험용액이 들어있지 않은 배양액을 대조군으로 하여 모든 실험결과는 다음과 같이 대조군의 백분율로 산출하였다.

$$\text{세포활성도(\%)} = \frac{\text{실험 Well의 흡광도}}{\text{대조well의 흡광도}} \times 100$$

3) 통계분석

각 농도와 시간에 따른 대조군에 대한 백분율로 환산된 세포활성의 평균과 표준편차를 구하고 이들의 통계학적 유의성은 일원분산분석법(ANOVA)과 Duncan's multiple range test를 이용하여 통계분석 하였다.

III. 연구결과

Chlorhexidine과 Listerine이 치은 섬유모세포에 미치는 영향을 평가하기 위해 치은 섬유모세포를 배양후 MTT assay를 이용한 치은 섬유모세포의 활성화도 평가 및 도립 현미경을 이용한 세포형태 변화를 평가하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 본 실험에 이용된 전체 농도에서 chlorhexidine과 Listerine을 가한 경우 세포의 형태는 둥글어지고 세포돌기의 소실을 보였다.
2. 치은 섬유모세포에 chlorhexidine을 가한 경우 배양 3일째에는 0.006% 이상의 농도에서 세포활성의 유의한 억제를 보였고, 0.0012% 농도 에서는 대조군수준의 세포활성을 보였다.
3. 치은 섬유모세포에 Listerine을 가한 경우 배양 3일째 적용시간에 관계없이 세포의 활성을 감소시켰고 1% 농도에서는 배양일에 관계없이 대조군 수준의 세포활성을 보였다.
4. 0.0012%의 Chlorhexidine과 1%의 Listerine용액은 이들 용액을 가한 시간에 관계없이 배양 시간이 지날수록 세포활성이 대조군 수준으로 회복되는 경향을 보였다.