

치은섬유아세포와 치주인대세포의 형태와 화학주성에 미치는 대조추출물의 효과에 관한 연구

양창호 · 류인철 · 최상묵 · 정종평
서울대학교 치과대학 치주과학교실

I. 서 론

치주영역에서 파괴된 치주조직의 완전한 재생¹⁻³⁾은 치주치료의 마지막 목적이다. 일반적으로 치주병소에 있어서 치유는 크게 4가지 Cell의 상호작용에 의해 진행된다. 치은섬유아세포, 치주인대세포, 골세포, 상피세포등이 그것이다. 성공적인 치주치료의 완성은 상피세포의 하방증식에 의한 긴 접합상피형성이나 치근흡수, 골유착등에 의해 방해되며 결과적으로 신생 치주인대세포에 의한 신부착이 이루어 지지 않는다. 이에 Osteoinductive potential과 신부착의 필수 세포인 치주인대세포의 성장에 의한 치유가 치주치료의 영역에서 중요한 부분이라 하겠다. 치주병소의 치유시 치주인대세포 활성화도는 병소에서 아주 근접한 부위에서 주로 일어나는 것으로 알려져 있고⁴⁾ 또한 치유과정중 성장 및 창상치유, 염증등의 생물학적 조절인자로 알려진 Polypeptide Growth factor가 관여하는 것으로 알려져 있다. 이들의 작용기전은 명확하게 밝혀져 있지 않지만 표적세포 표면의 수용기에 결합후 신호전달계에 의해 세포의 단백질 합성촉진과 microtubule, microfilament 증가를 동반한 운동성 촉진 등으로 알려져 있다⁵⁻⁶⁾.

또한 이들의 화학주성효과, 단백질 합성촉진효과, 상호 다른 Growth factor간의 연합효과등에 대하여 연구가 진행되어져 있으며 이들의 존재가 치주재생의 증진과 치유의 여러 활동영역에 있어서 생물학적 조절인자로써 알려져 있다⁷⁻⁸⁾.

최근 생약제재들이 경험적인 한방의 영역에서 벗어나 각 성분별, 효과별로 연구되면서 안정된 물질로써 관심의 대상으로 연구되어지고 있다. 후박(Magnoliae Cortex)에서 추출, 정제한 Magnolol과 Honokiol은 diphenyl, Mephen-sin등의 여러 물질과 비교하여 가장 효과적인 Central depressant action, Central acting muscle relaxant effect가 있는 것으로 알려져 있으며⁹⁾ Stress-induced gastric dysfunction에 강력한 억제 효과가 있는 것으로 알려져 있다. 또한 치과영역에서는 P. gingivalis에 항균효과를 보였으며 세포독성이 적은 것으로 알려져 있다¹⁰⁾. 또한 산조인으로 부터 추출된 Saponin과 Flavonoid는 진정작용¹¹⁾과 항알레르기 작용¹²⁾이 있는 것으로 알려져 있으며 hinokitiol 추출물과 egg white lysozyme은¹³⁾ 치주병인균에도 효과가 있는 것으로 알려져 있다.

그리고 또한 대조추출물은 치주영역에서 치은섬유아세포의 생물학 활성화도 촉진효과 및

* 이 본 논문은 1994년도 서울대학교 병원 임상연구비(01-94-236)지원에 의한 결과임.

교원질 합성과 총단백질 합성증가에 효과가 있는 것으로 알려져 있다¹⁴⁾.

손상된 조직의 재생촉진을 위하여는 세포의 활성화도 증가, mitogenic effect 등의 강화가 필요하리라 여겨지며 화학주성효과의 존재는 더 큰 효과를 거둘 수 있는 조건이라 여겨진다. 또한 이의 실제적인 임상적용을 위해서는 경제적인 수용가능성이 절실히 요구된다.

그러므로 본 연구는 단백질 합성 및 세포활성도에 효과가 있는 것으로 알려진 대조 추출물 분획을 대상으로 세포의 모양에 미치는 영향 및 화학주성 효과에 대한 영향을 살펴 보고자 시행하였다.

II. 연구재료 및 방법

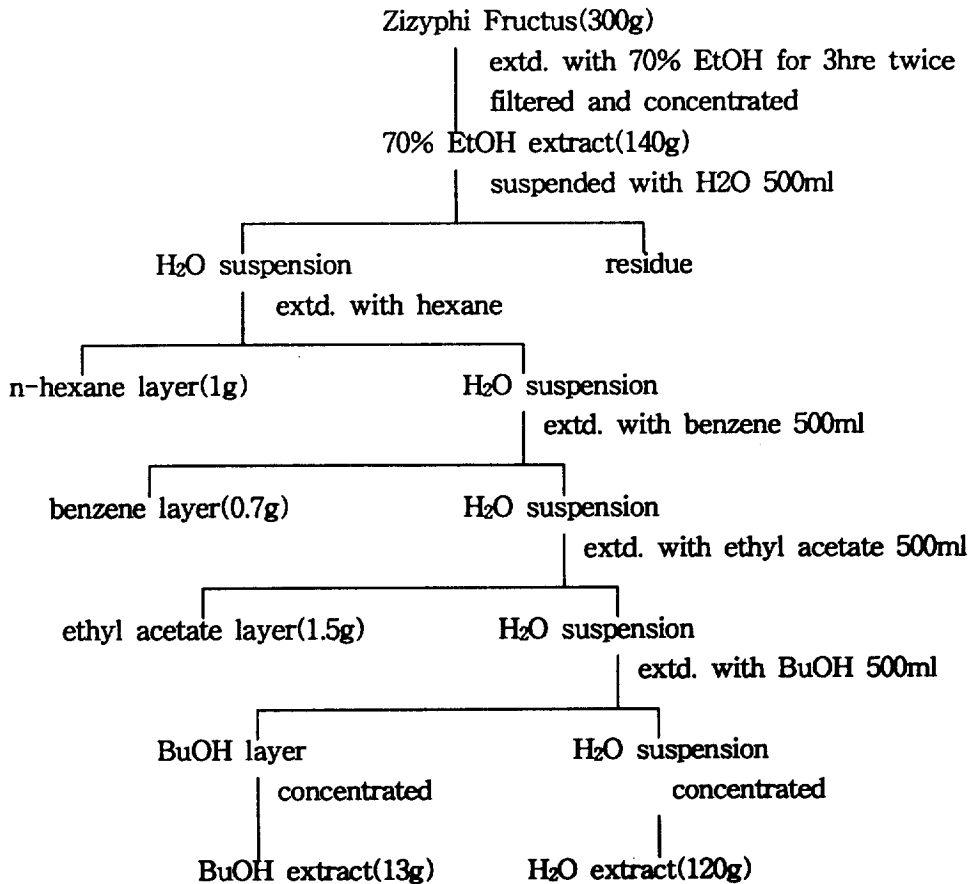
1. 연구재료

1-1. 약제의 준비

본 실험에 사용된 약제는 치주조직의 세포 활성화와 단백질 합성촉진에 효과가 있는 것으로 알려진 대조추출물(Zizyphi Fructus) 분획물을 사용하였다.

1-2. 약제의 준비 및 대조추출물(Zizyphi Fructus)의 분획과정

대추 300g을 70% EtOH로 수욕상에서 3시간씩 2회 환류, 추출한다. 추출되어진 EtOH 용액을 여과, 여액을 감압, 농축하여 EtOH extract (140g)를 얻는다. EtOH extract(140g)를



증류수 500ml에 현탁, 증류수현탁액을 만든 후 이것에 Hexane 500ml로 3회 진탕, 추출하여 Hexane fraction을 얻는다. 이것을 농축하여 Hexane extract (1g)를 얻는다. 남아있는 증류수 현탁액에 benzene 500ml로 3회 진탕, 추출하여 benzene fraction을 얻고, 이것을 농축하여 benzene extract(0.7g)을 얻는다. 계속하여 남아있는 증류수현탁액에 ethyl acetate 500ml로 3회 진탕, 추출하여 ethyl acetate fraction을 얻고, 이것을 농축하여 ethyl acetate extract (1.5g)을 얻는다. 계속하여 남아있는 증류수현탁액에 BuOH 500ml로서 3회 진탕, 추출하여 BuOH fraction을 얻고, 이것을 농축하여 BuOH extract (13g)을 얻는다. 마지막으로 남아있는 증류수현탁액을 농축하여 H₂O extract (120g)를 얻는다.

2. 연구방법

2-1. 세포배양

지금까지 치주영역에서 세포를 배양시켜 실험하기 위하여 여러가지 방법¹⁵⁻¹⁹⁾하에서 연구가 진행 되어왔다. 본 실험에서는 교정발치를 위하여 내원한 환자의 제 1. 2소구치를 대상으로 치은섬유아세포 및 치주인대세포를 채취하였다. 채취하는 방법으로는 처음에는 큐렛과 초음파 치석제거기를 이용하여 발거 대상치아주위의 치석 및 치태를 제거하고 0.12% Chlorhexidine으로 30초간 mouth rinsing을 실시하였으며 그후 worm saline으로 3회 이상 구강을 세척하여 잔존한 Chlorhexidine을 제거하였다. 국소마취를 실시하고 치간부위에 내사면 절개를 가한 다음 정상치은조직을 채취하였다. 채취한 조직편을 100µg/ml Penicillin과 100µg/ml Streptomycin이 첨가된 α-MEM(Gibco, USA)에 침수시켰다. 채취된 조직은 약 1mm²으로 절절한 다음 35mm세포배양 접시에 고르게 분산시켜 100µg/ml Penicillin과 100µg/ml Streptomycin 및 10% FBS(Fetal Bovine Serum)가 첨가된 α-MEM을 이용하여 세포배양을 시행하였으며 3일 간격으로 배양액을 교대해 주었고 밀생할때까지 배양하였다. 배양시 습도는 95

%, 온도는 37°C를 유지하면서 95%의 공기와 5%의 CO₂를 계속 공급하였다.

2-2. Cell morphology변화 연구

밀생한 세포를 Trypsin-EDTA와 원심분리기를 이용하여 세포를 모은후 Hemacytometer를 이용해 counter하여 각 배양접시에 5×10⁵개/ml의 세포를 접종하여 24시간 배양시켰다. 24시간 배양후 각 생약제를 첨가한 배지를 이용하여 다시 24시간 배양하였다. 그 후 세포의 모양과 성장분포를 도립위상차 현미경을 이용하여 관찰하였고 사진촬영하였다.

2-3. 세포 화학주성 평가

치주인대세포 및 치은섬유아세포의 화학 주성평가는 Adelman-Grill et al²⁰⁾의 방법으로 시행하였다. 간단히 살펴보면 사용기구는 5 mg/ml gelatin solution으로 완전히 피복된 8µm pore polycarbonate막으로 상하 chamber로 양분되는 48-well microchemotaxis chamber로 이루어져 있다. 각 well의 하부에 대조군으로는 Fetal Bovine Serum(FBS)과 Antibiotic을 포함하는 α-MEM을 사용하였고 실험군으로는 가장 세포활성도가 높은 것으로 알려진 0.1ng/ml 농도의 PDGF 그리고 10µg/ml, 1µg/ml 농도의 Zizyphus Fructus분획물을 30µl씩 위치시켰다. 그리고 상부에는 Hemacytometer를 이용하여 측정한 5×10⁵cell/ml의 세포 suspension 50µl를 첨가하여 5% CO₂, 95% air와 37°C환경하에서 4시간 동안 배양하였다. 4시간 동안 배양후 Chamber에서 Filter를 제거하여 하부의 cell을 고정, Giemsa염색용액으로 처리 후 현미경상에서 migration된 cell을 조사하였다.

III. 연구결과

3-1. 약제가 세포형태에 미치는 영향(Fig 1-10)

24시간후 관찰된 세포의 형태가 치은섬유아세포와 치주인대세포에서 spindle형태로써 배

지를 사용한 대조군과 차이가 없었으며 정상적인 모양을 유지하고 있었다.

3-2. 약제가 화학주성에 미치는 영향

치은섬유아세포에 대한 화학주성효과는 표 1과 같다. 배지인 α -MEM만에서의 화학주성효과를 100으로 한 백분율로 나타낸 결과 H₂O Ext는 control에 비해 39.5±5.8와 41.5±8.8로써 31.7%와 38.3%의 증가를 가져왔고 70% EtOH Ext와 BuOH Ext는 각각 40.0±2.6, 44.0±7.1, 42.5±8.1와 44.25±8.6로서 33.3%, 46.7%, 41.7%와 47.5%의 증가를 보였다. 또한 PDGF는 81.75±17.9으로서 172.5%의 증가를 보였다. 대조 추출물간에는 유의

성있는 차이를 보이지는 않았지만 대조군에 비하여는 유의성있는 증가를 가져왔으며 PDGF가 실험군중에서 가장 큰 효과를 보이고 있다.

치주인대세포에 대한 화학주성효과는 표 2와 같다. 배지인 α -MEM만에서의 화학주성효과를 100으로 하여 백분율로 나타낸 결과 H₂O Ext는 control에 비해 22.75±3.3와 20.0±0.8로써 59.6%와 40.0%의 증가를 가져왔고 70% EtOH Ext와 BuOH Ext는 각각 25.0±1.8, 20.5±1.7, 22.5±2.1, 19.25±1.7로서 75.4%, 43.9%, 57.9%와 35.1%의 증가를 보였다. 또한 PDGF는 31.75±1.7으로서 122.8%의 증가를 보였다. 치주인대세포에 대한 화

표 1. 치은 섬유아세포에 미치는 영향

| Sample | Mean number± SD | Increase(%) |
|--------------------------------|-----------------|-------------|
| Control | 30.0 ± 5.1 | |
| Zizyphi Fructus | | |
| H ₂ O Ext(10µg/ml)% | 39.5 ± 5.8 | 31.7 |
| (1µg/ml) | 41.5 ± 8.8 | 38.3 |
| 70% EtOH Ext(10µg/ml) | 40.0 ± 2.6* | 33.3* |
| (1µg/ml) | 44.0 ± 7.1* | 46.7* |
| BuOH Ext(10µg/ml) | 42.5 ± 8.1* | 41.7* |
| (1µg/ml) | 44.25± 8.6* | 47.5* |
| PDGF(0.1ng/ml) | 81.75± 17.9* | 172.5* |

* P<0.05 significancy between control group and experimental group

표 2. 치주인대세포에 미치는 영향

| Sample | Mean number± SD | Increase(%) |
|-------------------------------|-----------------|-------------|
| Control | 14.25± 3.3 | |
| Zizyphi Fructus | | |
| H ₂ O Ext(10µg/ml) | 22.75± 3.3* | 59.6* |
| (1µg/ml) | 20.0 ± 0.8* | 40.0* |
| 70% EtOH Ext(10µg/ml) | 25.0 ± 1.8* | 75.4* |
| (1µg/ml) | 20.5 ± 1.7* | 43.9* |
| BuOH Ext(10µg/ml) | 22.5 ± 2.1* | 57.9* |
| (1µg/ml) | 19.25± 1.7* | 35.1* |
| PDGF(0.1ng/ml) | 31.75± 1.7* | 122.8* |

* P<0.05 significancy between control group and experimental group

학주성효과에서는 대조 추출물간에는 유의성있는 차이를 보이지는 않았고 또한 PDGF와 대조추출물간에도 유의성있는 증가는 보이지 않았지만 PDGF가 좀 더 증가된 양상을 보이고 있다.

IV. 총괄 및 고안

치주병소의 치유증진과 Connective tissue attachment를 위하여 연구 되어온 방향을 보면 치근면치리에 대한 효과연구와 치료에 의한 fibroblast의 친근성 증진, 두번째로는 barrier membrane을 이용하여 치은상피세포의 하방증식을 억제함으로써 Connective tissue attachment의 시간적 여유를 유지 시키는 방향 그리고 세번째로는 치주인대세포의 활성도를 증진시켜 치주인대세포의 migration 및 mitogenic effect를 증진시키는 쪽이라 하겠다.

MC Allister²²⁾등은 백악질내에 fibroblast의 attachment를 증진시키는 substance가 존재한다고 하였고 Nishimura²³⁾등은 백악질의 표면층이 fibroblast에 가장 화학주성효과가 좋았다고 하였으며 이는 깊은 백악질보다 효과가 좋았으며 이 깊은 백악질도 탈회등의 표면치리에 의해 약간 효과가 증진되기는 하였지만 표면 백악질보다는 효과가 떨어진다고 하였다. Pitaru²⁴⁾등도 이 탈회된 부분의 증진효과에 대해서는 유사한 의견을 보이고 있다. 최근에는 항균효과와 표면처리 효과를 가진 Tetracycline²⁵⁾을 이용한 연구가 발표되고 있다.

Gore-tex membrane을 이용한 Guided Tissue Regeneration은 상피세포의 하방증식을 억제하기 위한 방안이라 하겠다.

Chemotaxis의 기전에 대해서는 bacteria²⁶⁾나 phagocyte²⁷⁾에 있어서는 표면의 receptor와 결합하여 S-adenosyl methionine에서 methyl group의 전달을 자극하는 것으로 알려져 있다. Verena²⁸⁾등은 chemotaxis에 있어서 부착의 증진이 화학주성의 증진과 연관이 있다고 하였는데 이로 보아 cell들의 migration은 어떤 부분을 비계로 하여 이루어지는 것으로 보아야 하며 이로써 비계에 세포의 부착 여부가 기본

적인 요소라 보여진다. 이는 치근의 표면치리로 인한 부착도의 증가가 치유의 증진에 효과적이라는 결과들과 연관된다고 하겠다. 또한 세포내의 cytoskeletal component가 세포 접착기전에 관여한다. Protien synthesis에 관해서 살펴보면 Grinnell²⁹⁾등은 Protien synthesis억제가 fibroblast의 attachment에는 별 관계가 없는 것으로 보고하고 있으며 Verena등은 adherence에는 관계하지 않지만 actual migration에는 많은 연관을 가지고 있다고 하였다. Actual migration에는 여러 기전이 복합적으로 작용하고 있으며 chemoattractant가 하나의 기전 또는 여러 기전에 동시에 작용함으로써 화학주성 효과를 활성화 시킬 것이다. 본 연구에서 나온 결과를 볼 때 대조 분획물이 약간의 화학주성효과를 보이고 있는데 이는 양¹¹⁾등이 이야기한 대조추출물분획물의 세포활성도 증가, 콜라겐 합성증가, 총 단백질 합성증가 효과와 관련이 있는 것으로 사료된다.

PDGF나 IGF는²¹⁾ collagen synthesis, mitogenic effect 그리고 chemotaxis의 효과증진에 관여함을 말하고 있는데 이는 연결된 기전상에서 이루어 지는 것으로 보인다. 연구되어온 여러 생약제제들의 결과를 보면 이³⁰⁾등은 Sanguinarine이 치주병인균에 대하여 항균효과가 Chlorhexidine보다 뛰어나다고 하였다. Japanese Green Tea추출물은 우식성 세균인 Streptococcus mutans에 항균효과¹³⁾가 있는 것으로 알려져 있다. 대조추출물도 항균효과 항염효과 그리고 항진균효과를³¹⁾ 보이고 있는 것으로 알려져 있으나 이들의 항균효과는 치주병인균에 대한 직접적인 효과는 아니다. Kenji 등은³²⁾ hinokitiol 추출물과 egg white lysozyme 등은 치주병인균인 Actinobacillus, Capnocytophaga, Fusobacteria, Eikenella, Bacteroides 등에 항균효과가 있는 것으로 말하고 있다. 이 생약들의 작용영역과 효과에 대하여는 더 많은 연구가 필요하며 임상적 적용방안에 대해서는 많은 과제가 남아 있으며 이는 더 많은 연구가 요구되는 영역이다.

이로 보아 생약의 복합적인 투여는 더 좋은 효과를 기대 할 수 있으며 세포활성효과와 항

균효과 화학주성 촉진효과에도 대조추출물의 좋은 효과가 기대되고 있으며 임상적 적용방안등에서 계속적인 연구가 필요하리라 사료된다.

V. 결 론

1. 세포의 형태는 spindle 모양을 유지하고 있었으며 대조군에 비해 특이한 차이를 보이지 않았고 분획물간에는 큰 차이없이 유사하였다.
2. 치은섬유아세포에 대해서 PDGF는 대조군에 비해 유의할 만한 화학주성유도 효과를 나타냈다. 대조추출물 분획물은 대조군에 비해 다소 증진된 유도효과를 보였으며 10 µg/ml의 농도보다 1µg/ml의 농도에서 약간 증진된 효과를 보였고 분획간에는 유의성 있는 차이는 없었다.
3. 치주인대세포에 대하여 PDGF는 대조군에 비해 유의할 만한 화학주성효과를 보였다. 그리고 대조추출물 분획물도 대조군에 비해 증진된 효과를 보였으며 1µg/ml의 농도보다 10µg/ml의 농도에서 약간 증진된 효과를 보였고 분획물간에는 유의성 있는 차이는 보이지 않았다.

참고문헌

1. 서조영, 박준봉 : 치주인대세포와 치은섬유아세포의 성장에 관한 비교. 대한구강생물학회지, Vol 15 ; 118, 1991.
2. Spron, M.B. and Roberts, A.B. : Peptide growth factors and inflammation tissue repair and cancer. J. Clin. Invest., 78 : 329, 1986.
3. Gospodarowicz, D. and Moran, J.S. : Growth factors in mammalian cell culture. Annu Rev Biochem 45 : 53, 1976.
4. Aukhil I. and Iglhaut J. : Periodontal ligament cell kinetics following experimental flowing experimental regenerative procedures. JCP 15 : 374, 1988.
5. Antoniades, H.N., and Owen, A.J. : Growth factors and regulation of cell growth. Annu Rev Med 33 : 445, 1982.
6. Schier, A.B., Kenney, J., Kowalski, W., et al. : Interaction of endothelial cell growth factor with heparin : Characterization by receptor and antibody recognition. Proc. Natl. Acad Su USA 82 : 6138, 1985.
7. Terranova V.P., Wikesjo U.M.E. : Extracellular matrices and polypeptide growth factors as mediators of functions of cells of the periodontium. J Periodontol 58 : 371, 1987.
8. Lynch S.E., Williams R.C., Polson A.M., et al. : A combination of platelet derived growth factor and insulin-like growth factors enhances periodontal regeneration. J Clin Periodontol 16 : 545, 1989.
9. Kazuo Watanabe. : Pharmacology of Magnolol, An active Principle of Magnolia bank. A chinese Crude drug. Scientific section 121.
10. 장법석, 손성희, 정종평, 배기환 : Magnolol 과 Honokiol이 항균, 교원질 분해 효소, 세포독성 및 Cytokine생산에 미치는 영향. 대한 치주학회지 Vol. 23, NO. 1, 1993.
11. 신국현, 우연식, 이정규 : Sedative Action of Flavonoids and Saponin from the Seed of Zizyphus vulgaris Var. Spinosus Bunge. 생약학회지 12(4) : 203, 1981.
12. Yagi A, Koda A, Inagaki N, Haraguchi Y, Noda K, Okamura N, Nishioka I. : Studies on the constituents of zizyphus Fructus, IV. Isolation of an anti-allergic component, ethyl alpha-D-Fructofuranoside from EtOH extract of zizyphi Fructus. YaKugaKu-Zasshi 101 : 700, 1981.
13. Yoji Saeki, Yoshio Ito, Masaki Shibata, Yoshinori Sato, Katsuji Oida and Ichiro Takazoe. : Antimicrobial Action of natural substances on oral bacteria. Bull. Tokyo dent. Coll., Vol. 30, No. 3, pp. 129, August,

- 1989.
14. 양창호, 이용무, 조기영, 배기환, 정종평 : 대조추출물분획이 치은섬유아세포의 생물학적 활성화에 미치는 영향. 대한치주학회지 Vol. 24, NO. 1, 1994.
 15. Somerman M.J., Archer S.Y., Imm G.R., and Foster R.A. : A comparative study of Human periodontal Ligament Cells and Gingival Fibroblasts in Vitro. JDR 76 : 66, 1988.
 16. Blomlof. L. & Otteskog, P. : Composition of Human periodontal ligament cell in tissue culture. Scand. J. Dent. Res. 89 : 43, 1981.
 17. Cho M.I., Lee Y.L., Lin W.L., Moshier A, Ramakrishnan PR. : In vitro formation of mineralized nodules by peridontal ligament cells from the rat. Calcif Tissue Int 1992 ; in Press :
 18. Ragnarson B., Carr G., Daniel J.C. : Isolation and Growth of Human Periodontal ligament cells in vitro. J Dent Res 64(8) : 1026, August, 1985.
 19. Brunette D.M., Melcher A.H. and Moe H. K. : Culture and Origin of Epithelium-like and Fibroblast-like cells From Porcine Periodontal ligament Explants and cell suspensions. Archs Oral Biol. Vol. 21, PP. 393, Pergamon Press 1976.
 20. Adelman-Grill B.C., Cully Z. : Signal perception of fibroblasts for directional migration to platelet-derived growth factor in Boyden-type chambers. J Cell Physiol 143 : 172, 1990.
 21. N. Matsuda, W.L.Lin, N.M. Kumar, M.I. Cho. and R.J. Genco. : Mitogenic, Chemotactic, and Synthetic Responses of Rat Periodontal Ligament Fibroblastic Cell to Polypeptide Growth Factors In Vitro. JOP 63 : 515, 1992.
 22. M.C. Allister B., Narayanan A.S., Miki Y., Page R.C. : Isolation of a fibroblast attachment protein from cementum. J Periodont Res 25 : 99, 1990.
 23. Nishimura K., Hayashi M., Matsuda K., Shigeyama Y., Yamasaki A., Yamaoka A. : The chemoattractive potency of periodontal ligament, cementum and dentin for human gingival fibroblasts. J Periodont Res 24 : 146, 1989.
 24. Pitaru S., Aubin J.E., Gray A., Metzger Z., Melcher A.H. : Cell migration attachment and orientation in vitro are enhanced by partial demineralization of dentine and cementum and inhibited by bacterial endotoxin. J Periodont Res 19 : 661, 1984.
 25. William Jar-Liang Liu, Charles W Solt. : A Surgical procedure for the treatment of localized gingival recession in conjunction with root surface citric acid conditioning. JOP 51 : 505, 1980.
 26. Kort E.N., Goy M.F., Larsen S.H., and Adler J. : Methylation of a membrane protein involved in bacterial chemotaxis. Proc Natl Acad Sci USA 72 : 3939, 1975.
 27. Pike M.C., Kredich N.M., and Snyderman R. : Requirement of S-adenosyl-L-Methionine-mediated methylation for human monocyte chemotaxis. Proc Natl Acad Sci USA 75 : 3928, 1978.
 28. Verena Gauss-Muller, Hynda K Kleinman, George R Martin, and Elliott Shiffmann Bethesda. : Role of attachment factors and attractants in fibroblast chemotaxis. J Lab Clin Med 96 : 1071, 1980.
 29. Grinnell F. : Cellular adhesiveness and extracellular substrata. Int Rev Cytol 53 : 65, 1978.
 30. 이승렬, 정종평, 최상목, 배기환 : 천연물 추출물의 치주병인균에 대한 항균효과 및 세포독성에 관한 연구. 대한치주학회지 Vol. 22, No. 3, 1992.
 31. Shah AH., Al-Bekajri AM., Qureshi S., Ageel AM. : Zizyphus sativa fruits : Eva-

luation of some Biological Activities and Toxicity. *Phytother Res.* 3 : 61 : 232, 1989.

32. Kenju Osawa, Teruo Matsumoto, Takashi Maruyama, Toshio Takiguchi, Katsuji Okuda. and Ichiro Takazoe. : Studies of

the antibacterial activity of plant extracts and their constituents against periodontopathic bacteria. *Bull. Tokyo dent. Coll.*, Vol. 31, No. 1, pp. 17, February, 1990.

사진부도 ①

Fig 1. Control on GF

Fig 2. H₂O extract on GF

Fig 3. EtOH extract on GF

Fig 4. BuOH extract on GF

Fig 5. PDGF on GF

Fig 6. Control on PDL

사진부도 ②

Fig 7. H₂O extract on PDL

Fig 8. EtOH extract on PDL

Fig 9. BuOH extract on PDL

Fig 10. PDGF on PDL

A STUDY OF THE EFFECT OF ZIZYPHUS FRUCTUS EXTRACTS ON MORPHOLOGY & CHEMOTAXIS OF GINGIVAL FIBROBLAST & PERIODONTAL LIGAMENT CELLS

Chang-Ho Yang, In-Chul Ryu, Sang-Mook Choi, Chong-Pyoung Chung
Department of Periodontology, College of Dentistry, Seoul National Univeristy

The most important object of periodontal treatment is the perfect regeneration of destructed periodontal tissue. The healing of periodontal lesion is affected by several cells & factors, which result in formation of long junctional epithelium, root resorption, bony ankylosis or connective tissue attachment. And ideal healing is enhanced by epithelial exclusion or periodontal ligament cell activation. In this investigation, I studied the effect of Zizyphus Fructus extract which enhances biologic activity & collagen synthesis, on the chemotaxis & cell nature.

The cells were obtained from interdental area & middle third area of the freshly extracted teeth for the orthodontic purpose. And they were fully incubated in α -MEM solution containing 100 μ g/ml penicillin & 100 μ g/ml streptomycin followed by 6 generation incubation. The test cells were collected by trypsin-EDTA & centrifuge in the fully incubated cells, counted by Hemacyotmeter, incubated 5×10^5 /ml cells for 24 hours, re-incubated 24 hours in media containing natural extract and photographed. The cells were incubated for 4 hours in 48 well microchemotaxis chamber bisecting upper & lower chamber by 8 μ m pore polycarbonate membrane coating 5mg/ml gelatin solution. The migrated cells in microscope were counted, which meant cell chemotaxis activity.

The study had shown that the morphology of cell was spindle-shaped as the control group, and the subextract test groups were not significantly different. In gingival fibroblasts, the chemotaxis effect of PDGF was statistically significant compared to control group. The Zizyphus Fructus extract was more or less enhanced chemotaxis effect and in 1 μ g/ml concentration the chemotaxis effect was slightly elevated compared with 10 μ g/ml concentration. But, among the subextracts, it was not significantly different. In PDL cells, the chemotaxis effect of PDGF in statistically significant, and the zizyphus Fructus extract had shown the enhanced effect. The effect was slightly higher in 1 μ g/ml concentration than 10 g/ml concentration, and no significance among the subextracts.

Key word : Zizyphus Fructus extract, Gingival fibroblast, Periodontal ligament cell, PDGF, Chemotaxis.