옥수수(Zea Mays L.) 불검화 추출물과 후박(Magnoliae cortex) 추출물의 혼합물이 백서의 두개골 재생에 미치는 영향

김태일, 류인철, 정종평, 이용무, 구 영

서울대학교 치과대학 치주과학교실

I. 서 론

치주질환은 일반적으로 치태 내 치주병원균에 의한 감염성 질환으로, 만성염증에 의한 치주조직파괴, 특히 치조골 파괴를 보이며 치아상실을 일으키게 된다. 따라서, 치주질환의 치료는 염증의 조절을 통해 골소실을 방지하고 파괴된 골을 재생시키는 것을 목적으로 한다.

이러한 목적을 이루기 위한 치료방법에는 치석제거술, 치근면 활택술, 치주판막술 등 기계적으로 국소요인을 제거하는 방법과, 약제를 국소적, 전신적 투여하는 방법이 있다. 약물적인 접근법은 항생제제와 항균제제 및 항염제제로 크게 대별되며 1920년대부터 많은 연구가 진행되어왔다.

Tetracycline으로 대별되는 항생제제는 항균 효과 및 교원질 분해효소의 활동을 억제하여 골 흡수를 방지하고 결손 골조직의 재생에 기여하는 등의 효과를 보인다는 보고[1,2,3]도 있으나, 내성균발현, 과민반응 및 위장장애 등의 부작용으로 인하여 제한적인 범위 내에서 적용이 되고 있다.[35]

한편, flurbiprofen 같은 NSAID 약제들은 효과적인 항염제제로서 PGE_2의 생성을 억제하고 저농도의 장기 복용으로 골 재생의 효과를 보이며,[4,5] Phenolic compound, Quaternary ammonium compound, Bisbiguanide제제 등으로 대별되는 항균화학 제제들은 일정 정도의 치태억제 및 항균 효과를 보이고 있으나,[6,7] 치아의 표면착색, 박리성 치은염유발, 점막의 과민증 등의 문제점을 안고 있다.[8,9]

기존 약제들의 부작용을 극복하기 위한 방법의 하나로 근래들어 생약제제에 대한 연구가 매우 활발히 진행되고 있다. 현재까지 활발히 연구된 생약제제들로는 옥수수 불검화 추출물, 후박 추출물, 대조 추출물, 은행엽 추출물, 홍화씨 추출물 등이 있다.

옥수수 불검화 추출물은 Thier가 치주농루 및 치주염에 효과가 있다고 1958년 보고한 이후로,[10] 치조골 흡수 및 치주인대 파괴에 대한 예방 및 재생효과,[11] 치태지수 감소 및 치은지수감소,[12] 치은염증과 치아동요도 감소,치주낭 깊이의 감소,[13] 치은의 각화도 증진,[14] 치경부과민증해소,[15] 구강건조증의 경감[16] 등의 효과가 보고 되었다.

후박 추출물은 1970년대 이후 치아우식증 유발 세균에 대한 항균효과,[17,18] 치주질환 세균에 대한 항균효과 및 치은섬유아세포에서 교원질 분해효소의 생산 억제효과, IL-1β 및 PGE_2 생산 차단효과[19,20] 등이 보고되었다.

대조추출물은 IL-1β 및 PGE_2 생산차단 효과, 치은섬유아세포에서 교원질 분해효소의 생산억제효과, 치은섬유아세포 활성증진 효과 등이 확인된 바 있으며,[21,22] 은행엽 추출물도 교원질 분해요소의 생산억제효과와 치은섬유아세포의 세포활성도를

본 연구는 1996년도 서울대학교 지정연구비(02-1996-362-0)지원에 의한 결과임

교신 저자: 구 영, 서울특별시 종로구 연건동 28 서울대학교 치과대학 치주과학교실, 우편번호 110-749

증진시키는 효과가 있다고 보고되었다.[27)]

홍화씨 추출물은 항응혈 효과,항염효과 및 치주인대세포의 활성화와 신생골 형성촉진 효과 등이 보고되었다.[25)]

이러한 생약제제들은 동양의학에서 오랜 기간 사용되어온 약제들로 화학제제들이 가지는 부작용을 보완할 수 있는 제제로 기대되어 최근 들어서는 생약제제들의 혼합물에 대한 연구가 활발히 진행되고있다.

이는, 생약제제가 가지는 안전성과 더불어 약리효과를 높이기 위한 시도라 볼 수 있는데, 후박 및 은행엽 추출물,후박 및 대조 추출물,후박 및 홍화씨 추출물 등의 약제 실험결과는 각각의 생약제제를 단독투여 했을 때보다 증진된 효과를 보이고 있다.[23,24,26,28,29)]

특히, 옥수수 불검화 추출물과 후박 추출물의 혼합물은 각각의 약제를 단독으로 사용했을 때보다, 치은섬유아세포 활성도를 저해하지 않고, 치주질환원인균에 대해 효과적인 항균작용을 지니고 있음이 관찰된 바 있다.[38)]

따라서, 본 연구는 세포실험에서 낮은 독성과 효과적인 항균력을 보여준 옥수수 불검화 추출물과 후박추출물의 혼합물이 백서의 두개골 결손부 치유에 미치는 효과를 측정하여, 골 파괴성 치주질환에 대한 응용 가능성을 평가하는데 있다.

II. 대상 및 방법

1. 약제의 준비

1) 후박 추출물의 제조

후박(Magnolia officinalis L.) 또는 일본후박(Magnolia obovata thumb) 500g을 작게 절단하고 라운드 플라스크에 넣고 75% ethanol 3L를 가하여 60 ºC의 수욕에서 2시간 추출하고 냉각하여 여과한 다음 여과액을 얻었다. 남은 잔사에 상기 조작을 다시 하여 2차 여과액을 얻고, 1,2차 여과액을 합하여 감압 농축하여 에탄올 추출물(90g, 18%)을 얻었다. 이 추출물을 HPLC로 주성분인 magnolol 을 지표로 정량하여 이 물질이 0.5 %이상 함유된 것을 실험에 사용하였다.

2) 옥수수 불검화 추출물의 제조

옥수수의 배아에서 채취한 옥수수 기름 1kg을 라운드 플라스크에 넣고 n-헥산 10L를 가하여 점성이 적은 용액으로 한 다음, 여기에 5% 가성소다 용액 0.68L를 가하여 55 ºC에서 3시간 환류시키고 냉각하여 2시간 방치시키면 2층으로 분리되는데, 옥수수 기름중의 지방과 기름 및 유리지방산은 검화와 중화에 의하여 대부분 수층에 녹아 나오는 것을 제거하였다. 남은 잔사는 불검화물 함량이 약 40%인 진한 갈색의 점조한 물질로 0.045kg 이었다. 이것을 2차 검화를 위하여 라운드 플라스크에 옮기로 위의 검화조작을 2회 반복하였다. 이러한 과정에 의하여 얻은 불검화물을 농축하여 무색의 백색결정인 β-시토스테롤을 주성분으로 하는 건조물을 얻었다. gas chromatography 분석을 하여 β-시토스테롤이 약 70%, 캄페스테롤이 6%이며, α-시토스테롤이 약 16% 함유되어, 전체 sterol 성분이 약 93%인 순수한 물질을 얻었다.후박추출물은 후박 500g을 70% 에탄올로 수용상에서 3시간씩 2회 환류해서 추출한 후 에탄올 용액을 여과하고 여액을 감압 농축하여 얻었다.

2. 동물실험과정

체중 200g가량의 백서(Sprague-Dawley rat) 에 염산 자일리진액 (Rompun,한국 바이엘, 한국)과 염산케타민 (Ketalar, 유한양행, 한국)을 혼합하여 30mg/kg 농도로 복강 내 마취를 시행하였다. 두피

제모후, 포비돈 으로 소독하고 수술 부위에 소량의 2% lidocaine 주입 후 백서를 두부 고정기에 고정하였다.

전두골 전방에서 후두골 후방부까지 두개골의 정중앙을 절개하여 전층 판막을 형성한 후 두개골을 노출시켰다. 두개관에 8mm 직경의 결손부를 trephine bur (3i,USA)로 뇌막손상 없이 생리식염수를 주입하며 형성한 후 5-0 chromic cat gut 과 3-0 black silk 로 layered suture 를 시행하였다. 수술 4주, 6주 후에 희생시키고 두개관을 절제하였다.

3. 실험군 결정 및 투약

생약제제투여군은 후박 추출물 단독(M) 및 옥수수 불검화 추출물 단독군(Z)으로 하였고, 혼합약제투여군은 후박 및 옥수수 불검화 추출물의 혼합비를 1:1 과 2:1이 되는 혼합약제를 투여하는 군으로 하였으며, 음성 대조군에는 아무런 약제도 투여하지 않는 것으로 하였다. 약제의 일일 투여량은 수술처치를 받은 백서의 군별로 각각 94.5mg/kg (이하 I 군)과 189mg/kg (이하 II 군)씩 나누어 약제의 적절한 농도도 평가해 보기로 하였다. 일일 1회씩 oral zonde needle을 이용하여 경구투여하였다.

4. 골조직 재생 유도능력 평가

1) 방사선 계측학적 분석

디지털 방사선 영상을 얻기 위해, 절제한 두개관을 경막면이 위를 향하도록 영상판에 위치시키고 10cm 거리에서 Dental X-ray unit(Asahi GX-70, Asahi Roentgen Co., Kyoto,Japan)을 이용해 10mA, 60 kVp, 0.4초의 조건으로 방사선사진을 촬영한 후, 현상하여 Nikon Coolscan III (Nikon, Tokyo, Japan)으로 스캐닝하여 얻은 고해상도 이미지를 컴퓨터 모니터상에 재현하였다.

두개관 결손부 중앙의 방사선 불투과 정도를 기준으로하여 이보다 방사선 불투과 정도가 높은 두개관 결손부의 방사선 불투과상의 면적비율(%)을 Image Access (Bildanalyssystem AB, Stockholm, Sweden)를 이용하여 계측하였다.

2) 조직 계측학적 분석

각 군의 시편을 10% formalin 용액에 고정한 후 5% trichloroacetic acid 용액에 10일간 넣어 탈회한 후 탈수고정 및 paraffin에 포매한다. Center defect 에서 5μm 두께로 관상면으로 절단하였다. 절단된 조직편들 중에서 결손부의 가운데 부위를 포함하는 조직편을 선택하여, Masson-Trichrome 염색법을 시행하고, 광학 현미경 (Olympus BX-50, Olympus optical co., Tokyo, Japan)하에서 관찰한 후, 두개관 결손부의 신생골조직의 면적(μm^2)을 Image Access (Bildanalyssystem AB, Stockholm, Sweden)를 이용하여 계측하였다.

3.통계분석

실험결과의 분석은 SPSS version 11을 사용하였으며,일원배치 분산분석법(One-way ANOVA)으로 각 주당 군간의 실험결과에 유의한 차이가 있는지를 통계적으로 검증하였다.사후검증방법으로는 Tukey법을 적용하고,신뢰도 95% 로 검증하였다.

III. 연 구 결 과

1. 방사선사진상 소견

방사선사진상 소견을 보면, 4주에서는 음성 대조군에서 두개관 결손부 변연을 따라 별다른 방사선 불투과상이 관찰되지 않는 반면, 후박 추출물 단독투여군(M I,M II)과 옥수수 불검화 추출물 단독투여군(Z

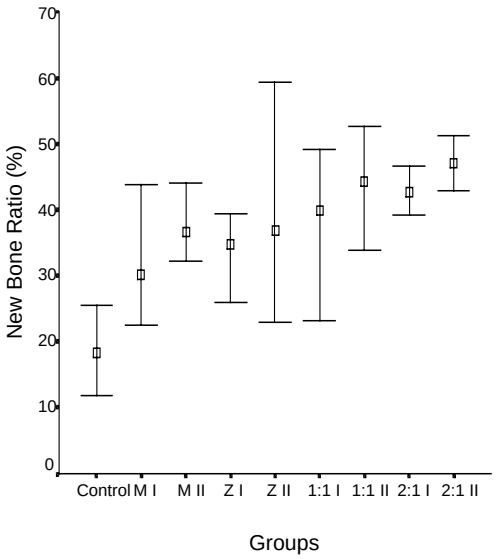


Figure 3. Radiomorphometric data of 4 weeks

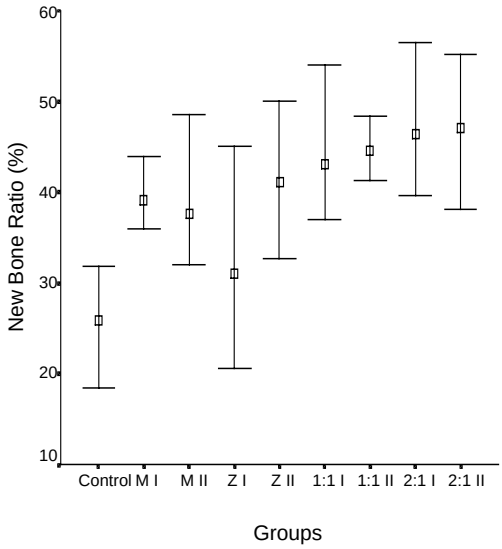


Figure 4. Radiomorphometric data of 6 weeks

I, Z II)에서 결손부위 변연으로부터 중앙부위로 방사선 불투과상이 늘어나는 양상을 보이고, 이는 혼합약제 투여군(1:1 I,1:1 II,2:1 I,2:1 II)으로 갈수록 현저히 증가되는 양상을 보였다(Figure 1).

6주에서도, 음성 대조군은 별다른 방사선 불투과상을 보이지 않는 반면, 후박추출물(M I,M II) 및 옥수수 불검화 추출물 단독투여군(Z I,Z II)에서는 방사선 불투과상이 증가하며, 혼합약제 투여군(1:1 I,1:1 II,2:1 I,2:1 II)에 이르러 현저한 방사선 불투과상이 관찰되었다(Figure 2).

2. 방사선 계측학적 분석

백서의 두개관 결손부에 형성된 신생골의 면적을 Image Access (Bildanalyssystem AB, Stockholm, Sweden)를 이용하여 계측한 결과, 4주의 음성 대조군에서는 두개관 결손부위를 채운 신생골의 면적 비율이 18.29%를 나타내었으나, 후박 추출물 단독투여군(M)에서는 I군에서 30.04%, II군에서 36.63%의 비율을 나타내었고, 옥수수 불검화 추출물 단독투여군(Z)에서는 I군에서 34.80%, II군에서 36.89%를 나타내어 음성 대조군에 비해 현저한 재생비율을 보여주었다. 이는 혼합약제군으로 갈수록 증가하였는데, 후박 추출물과 옥수수 불검화 추출물 1:1 혼합비를 가지는 군에서 I군은 39.82%, II군은 44.34%의 재생비율을 보였다. 2:1 혼합물 군에서 I군은 42.57%, II군은 47.05%의 재생비율을 보여,2:1 혼합약제 투여군중 189mg/kg 농도 투여군에서 가장 많은 신생골 재생비율을 나타내었으나, 94.5mg/kg 약제농도투여군과 통계학적 유의성 있는 차이는 없었다 (Figure 3).

한편, 6주에서는 음성대조군에서 신생골 면적 비율이 25.88%를 나타내었고, 후박 추출물 단독투여군(M) 중 I군에서는 39.08%,II군에서는 37.71%, 옥수수 불검화 추출물 단독투여군(Z) I군에서는 31.04%, II군에서는 41.14%를 나타내어 음성대조군과 비교되는 현저한 골재생 비율을 보였다. 이러한 경향은 혼합약제 투여군으로 갈수록 증가하는데, 후박추출물과 옥수수 불검화 추출물의 1:1 혼합군중 I군은 43.20%, II군은 44.56%, 2:1 혼합군중 I군은 46.38%, II군은 47.15%의 재생 비율을 보여 4주의 결과와 마찬가지로 2:1 혼합약제 투여군중 189mg/kg 농도 투여군에서 가장

많은 신생골 재생비율을 나타내었는데, 94.5㎎/㎏ 약제농도투여군과 비교하여 유의성 있는 차이는 관찰되지 않았다 (Figure 4).

3. 조직 소견

1) 4주 조직 소견

음성 대조군의 골 결손부에서는 신생골의 형성이 제한되어 일어났으며 결손부 대부분은 섬유성 결합조직에 의해 채워져 있었다 (Figure 5). 실험군은 모두 결손부 변연으로 부터 중앙을 향한 신생골 조직의 형성이 관찰되며 이러한 경향은 단독약제 투여군 보다 혼합약제 투여군으로 갈수록 뚜렷했다. 특히, 후박과 옥수수 불검화 추출물 혼합비 2:1의 94.5㎎/㎏ 과 189㎎/㎏ 농도 투여군에서 많은 양의 신생골 증식을 볼 수 있었다(Figure 6).

2) 6주 조직 소견

음성 대조군은 4주에 비해 결손부 변연에서 신생골 형성이 증가하였으나 대부분 결합 조직으로 채워져 있었다 (Figure 7). 실험군은 모두 4주 소견에 비해 조금 더 향상된 신생골조직의 재생이 관찰되었으며, 단독약제 투여군보다 혼합약제 투여군에서 현저한 재생량을 보였다. 4주 소견과 마찬 가지로 후박과 옥수수 불검화 추출물 혼합비 2:1의 I군과 II군에서 많은 양의 신생골 증식을 볼 수 있었다(Figure 8).

4. 조직 계측학적 분석

백서의 두개관 결손부에 형성된 신생골의 면적을 Image Access (Bildanalyssystem AB, Stockholm, Sweden)를 이용하여 계측한 결과 방사선 계측학적 분석결과와 비슷한 결과를 나타내었다. 4주에서, 음성대조군은 222938.29 μm^2의 신생골 재생량을 나타냈으며 후박추출물 단독투여군(M)에서는 I군에서 714973.25μm^2, II군에서 1203924.10μm^2의 재생량을 보였고, 옥수수 불검화 추출물 단독투여군(Z)에서는 I군에서 477329.20μm^2,II군에서 1117301.79μm^2를 나타내어 음성 대조군보다 현저한 수치를 보여주었다.

이는 혼합약제군으로 갈수록 증가했는데, 후박 추출물과 옥수수 불검화 추출물 1:1 혼합비를 가지는 군에서 I군은 1318356.68μm^2, II군은 1548027.42μm^2의 재생량을 보였다. 2:1 혼합물 군에서 I군은 2117171.39μm^2, II군은 2256704.05μm^2의 재생량을 보여,2:1 혼합약제 투여군 I,II 모두 다른 군에 비해 현저한 신생골 재생량을 나타내었다(Table 1).

한편, 6주에서는 음성대조군에서 신생골 재생량이 361228.90μm^2를 나타내었고, 후박 추출물 단독투여군(M) 중 I군에서는 1577057.17μm^2,II군에서는2023388.07 μm^2, 옥수수 불검화 추출물 단독투여군(Z) I군에서는 1149189.95μm^2, II군에서는 1256579.40μm^2를 나타내어 음성대조군과 비교되는 현저한 골 재생량을 보였다.

이러한 경향은 혼합약제 투여군으로 갈수록 증가하는데, 후박추출물과 옥수수 불검화 추출물의 1:1 혼합군중 I군은 2350172.78 μm^2, II군은 2432577.28μm^2, 2:1 혼합군중 I군은 2781664.51μm^2, II군은 3011213.67μm^2의 재생량을 보여 4주의 결과와 마찬가지로 2:1 혼합약제 투여군은 I,II 군 모두 타 군에 비해 현저한 신생골 재생을 나타내었다(Table 2).

4주의 조직계측학적 결과를 가지고 신뢰도 95%의 일원배치 분산분석을 시행한 결과, 음성대조군과 실험군간에 통계학적으로 유의성 있는 차이를 보였으며, 실험군내에서도 단독약제 투여군과 혼합약제 투여군 사이에 통계학적 유의성이 관찰되었다.

특히, 혼합약제 투여군내에서는 후박 추출물과 옥수수 불검화 추출물 2:1 혼합비의 I, II군에서 현저한 유의성이 보였으며, 두 군간의 차이는 없었다. 이는 6주에서도 같은 결과를 보였다(Figure 9,10).

Table 1. Histomorphometric data of New Bone Area(μm^2)at 4 weeks

Groups	MEAN	S.D.
Control	222938.29	44670.10
M I	714973.25	63571.54
M II	1203924.10	227699.31
Z I	477329.20	90893.77
Z II	1117301.79	202055.58
M:Z(1:1) I	1318356.68	156687.97
M:Z(1:1) II	1548027.42	334287.50
M:Z(2:1) I	2117171.39	166300.99
M:Z(2:1) II	2256704.05	286351.99

Table 2. Histomorphometric data of New Bone Area(μm^2)at 6 weeks

Groups	MEAN	S.D.
Control	361228.90	79681.45
M I	1577057.17	207762.27
M II	2023388.07	249111.71
Z I	1149189.95	150048.33
Z II	1256579.40	140997.13
M:Z(1:1) I	2350172.78	142913.50
M:Z(1:1) II	2432577.28	171114.48
M:Z(2:1) I	2781664.51	192287.44
M:Z(2:1) II	3011213.67	242764.24

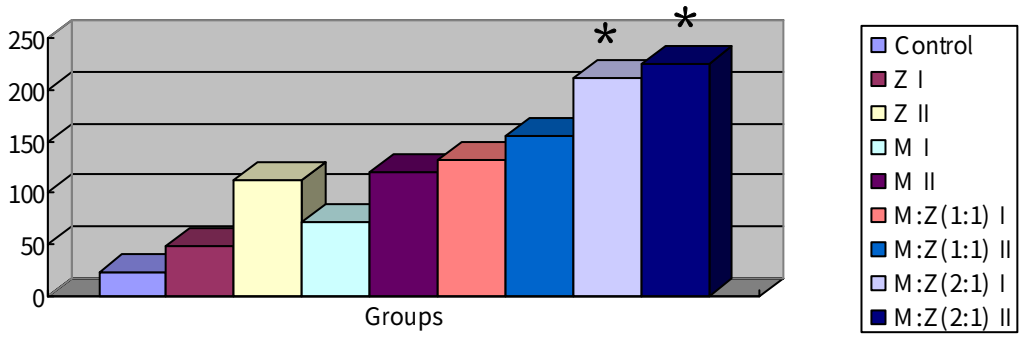


Figure 9. 4 weeks Histomorphometric area of new bone (x$10^4 \mu m^2$)
*: M:Z (2:1) I and II group showed statistical significance($p<0.05$).

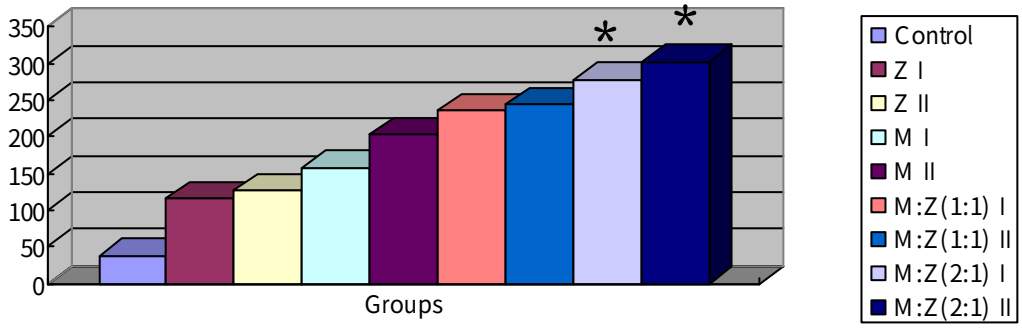


Figure 10. 6 weeks Histomorphometric area of new bone (x$10^4 \mu m^2$)
*: M:Z (2:1) I and II group showed statistical significance($p<0.05$).

IV. 고 찰

치주질환의 진행을 억제시키고, 치주병원균을 제거하기위해 전통적으로 사용되어 오던 화학적 항균,소염,항생제제들은 그 임상적인 효능에도 불구하고, 구강내 조직에 대한 독성작용으로 상피탈락, 궤양형성 및 내성균출현,과민반응,위장장애, 치아표면착색 등의 부작용으로 인해, 안전성에서 유리한 생약제제를 사용하여 치주질환을 치료하려는 노력들이 시도되고 있다.[25,27]

후박 추출물은 *Streptococcus mutans* 와 치태 내 세균에 대해 효과적인 항균효과를 가지고 있음이 1970년대부터 보고되었다. 항균효과면에 있어서, 후박 추출물은 tetracycline 및 chlorhexidine보다는 약하지만 listerine 보다 효과적이며, 다른 생약제제에 비해서는 월등한 항균효과를 나타낸다는 보고가 있었다.[19,20] 세포독성 측면에서도, chlorhexidine이 지니는 세포독성에 비해 현저히 낮은 세포독성을 보이면서, IL-1β의 생산차단효과를 통해 PGE_2 및 교원질분해 효소의 활동차단을 보이고 있다. 따라서, 후박추출물의 항균효과는 균자체에 대한 살균효과와 아울러, 균이 생산하는 교원질분해효소의 활동억제작용 및 균의 내독소의 자극에 의해 세포 내에서 분비되는 IL-1β 및 PGE_2 생산을 차단하는 기능을 갖는 효과적인 생약 항균제제로 평가되고 있다.[20,26,30]

옥수수 불검화 추출물은 여러 염증성 질환에 대한 효과를 보기위한 과정 중 우연히 치주농루 및 치주염에 대해 효과가 발견된 후, 치아동요도 감소, 치주낭 깊이 감소, 치은 출혈감소 및 조골기능의 활성화 등이 보고되었다. 그러나, 대부분 치주치료와 함께 병행하여 실험되었기에 자체적인 효능에 대해서는 많은 논란의 여지가 있다.[27,31,32,33] 아울러 항균 작용에 대한 구체적인 보고는 없기에, 근래들어 진행되는 연구는 없다.

본 연구에서는, 자발적인 골재생의 효과를 배제한 생약 제제의 순수한 효과를 보고자, Urist 등이 주장한 critical size defect인 직경 8㎜의 결손부를 형성하였으며,[36] 4주,6주 공히 음성대조군의 결손부에 신생골조직의 증식 이 미미한 것은 본 실험에서 채택한 결손 부가 약제의 효과를 보기에 효과적인 것이 었음을 입증한다고 볼 수 있다. 음성 대조 군은 대부분이 결체조직으로 치유가 되는 것을 보여주고 있다.

생약제제들이, 조직표본에서 염증 반응을 보이지 않는 것으로 미루어 생약 제제들이 특별한 부작용을 일으키지 않고, 조직의 치유에 긍정적인 반응을 일으킨다고 짐작된다.

4주째 후박추출물과 옥수수 불검화 추출물 투여군은 음성 대조군에 비해 상당한 양의 골 재생을 보이고 있으며, 이는 각각의 생약제제가 지니는 항균작용 및 생물학적인 효능에 기인하는 결과라고 설명될 수 있다. 각 군별 결과를 비교하면, 단독으로 생약제제를 투여한 군 보다 혼합약제를 투여한 군이 통계학적으로 유의성 있는 골재생을 보이고 있어서 혼합생약 제제로서 후박 추출물과 옥수수 불검화 추출물이 상승 작용을 나타냈다고 볼 수 있다.

6주째의 결과는 4주에서 보이는 골 재생량보다 증가하였는데,이것은 본 생약 제제의 효과가 장기복용 시에 더욱 현저해짐을 나타내는 것이다. 4주와 마찬가지로 단독약제 투여군보다는 혼합약제 투여군이 통계학적으로 유의성 있는 결과를 나타냈다.

4주, 6주 공히 백서의 두개골 결손부에서 통계학적으로 유의성 있게 가장 좋은 재생량을 나타낸 군은 후박 추출물과 옥수수 불검화 추출물을 2:1의 혼합비로 조성한 군으로, I,II 군간 특별한 차이를 보이지 않았다.

따라서, 후박추출물과 옥수수 불검화 추출물의 조성비가 2:1 인 혼합약제의 두개골조직 재생효과는 94.5mg/kg의 농도로도 충분하다고 보여진다.

이러한 결과들은 생약제제 혼합물로서 후박 추출물과 옥수수 불검화 추출물의 혼합약제가 골 파괴성 치주 질환에도 긍정적인 효과를 일으킬 것으로 사료되며, 향후 치주질환에 이환된 대동물 실험을 통해, 치주질환치료제로서의 개발 가능성을 기대할 수 있겠다.

V. 결 론

골 결손부를 치유하고, 손상부위의 신생골 재생을 촉진시킬 수 있는 방법으로서 후박 추출물과 옥수수 불검화 추출물의 혼합물을 경구투여하여, 방사선계측 및 조직계측의 방법으로 평가를 한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 음성대조군은 4주, 6주 모두 골 결손부에 신생골조직의 형성이 거의 없이, 결체조직으로 치유되는 양상을 보였다.
2. 모든 생약제제 투여군은 4주, 6주째에 음성대조군에 비해 신생골 재생량이 유의성 있게 증가하였다. ($p<0.05$)
3. 생약제제 투여군 가운데, 후박 추출물 및 옥수수 불검화 추출물의 단독약제 투여군보다 두 생약제제를 혼합한 약제 투여군에서 4주, 6주째에 신생골 재생량이 유의성 있게 증가하였다. ($p<0.05$)
4. 후박 추출물과 옥수수 불검화 추출물을 혼합한 약제를 투여한 군 중에서는 후박과 옥수수 불검화 추출물을 2:1의 혼합비로 투여한 군이 통계학적으로 유의성 있는 신생골 재생량을 보였다. ($p<0.05$)

VI. 참 고 문 헌

1. Terranova VP, Franzetti LC, Hic S.: A biochemical approach to periodontal regeneration : Tetracycline treatment of dentin promotes fibroblast adhesion and growth, *J Periodont Res* 21: 330-337 ,1986
2. Rifkin BR, Vernillo AT, Golub LM: Blocking periodontal disease progression by inhibiting tissue destructive enzyme : A potential therapeutic role for tetracycline and their chemically modified analogs. *J Periodontol* 64:819-827,1993
3. Greenwald RA, Moak SA, Ramamurthy NS, Golub LM: Tetracyclines suppress metalloproteinase activity in adjuvant arthritis and in combination with flurbiprofen, ameliorate bone damage. *J Rheumatol* 19:927-938,1992
4. Jeffcoat MK, Wiliams RC, Johnson HG, Gandru JS, Goldhaber P: Flurbiprofen treatment of periodontal disease in Beagles. *J Periodont Res* 21: 624-633, 1986
5. Jeffcoat MK, Wiliams RC, Reddy MS, English R, Goldhaber P: Flurbiprofen treatment of human periodontitis: Effect of alveolar bone height and metabolism. *J Periodont Res* 23:381-385,1988
6. Loe H.,Schiott CR.: The effect of mouth rinses and topical application of Chlorhexidine on the development of dental plaque and gingivitis in man. *J Periodont Res* 5:79-83,1970
7. Smith RN,Andersen RN, Kolenbrander PE: Inhibition of intergeneric coaggregation among oral bacteria by cetylpyridium chloride, chlorhexidine digluconate and octenidine dihydrochloride. *J Periodont Res* 26:422- 428,1991

8. Helgeland K,Heyden G,Rolla G : Effect of chlorhexidine on animal cells in vitro. Scan *J Dent Res* 79:209-215, 1971
9. Pucher JJ,Daniel JC: The effects of chlorhexidine digluconate on human fibroblasts in vitro. *J Periodont* 62: 526-532,1993
10. Thiers H,Jouanneteau,Zwingelstein: The maize germ oil insaponifiable. Its therapeutic indications. *Presse Medicale* 66:1293,1958
11. Chaput A: Insadol and parodontolyses. *L'Intormation Dentaire* 23: 2148,1964
12. Tecucianu J: Double blind clinical trial of titrated extract of the unsaponifiable fractions of Zea Mays L. on gingival inflammation. *Inf. Den* 57:27, 1975
13. Son S: Influence of standard extract of the unsaponifiable fraction of Zea Mays L. on periodontal disease. *Quintessence international* 8:1,1982
14. Scopp IW, Kumar W,Kasseuny DY, Ozick J: Corn-germ oil extracts in the treatment of periodontal disease. *Minerva Stomat.* 20:88-93, 1971
15. Fourel J, Siau T,Barka A: Clinical trials of the ussaponifiable part of Maize seed oil in periodontic practice. *L'Information Dentaire* 8:749-753,1967
16. Colombel J,Parente C: Trial of the unsaponifiable fraction of Zea Mays L. on dryness of the mouth induced by psychotropic drugs. *Progres Odonto Stomatologiques* 12:31-33,1974
17. Namba T,Tsunezuka M,Bae K, Hattori M.: Studies on dental caries prevention by traditional Chinese medicine (part I). Screening of crude drug for antibacterial action against streptococcus mutans. *Shoyakugaku Zasshi* 35, 1981
18. Bae K, Oh H: Synergistic effect of lysozyme on bactericidal activity of Magnolol and honokiol against a cariogenic bacterium, Streptococcus mutans OMZ 176. *Arch Pharmacies* 13: 117,1990
19. Chang BS, Son SH, Chung CP, Bae KH: The effects of honokiol and magnolol on the antimicrobial, bacterial collagenase activity, cytotoxicity and cytokine production. *J Korean Acad Periodont* 23: 145-158,1993
20. 이승렬,정종평,최상묵,배기환: 천연물 추출물의 치주병인균에 대한 항균효과 및 세포독성에 관한 연구. *대한치주과학회지* 22:515-526.1992
21. 양창호,이용무,조기영,배기환,정종평: 대조추출물이 치은섬유아세포의 생물학적 활성화에 미치는 영향. *대한치주과학회지* 24: 144-154,1994
22. Chung CP, Park JB, Bae KH: Pharmacological effects of methanolic extract from the root of Scutellaria baicalensis and its flavonoids on human gingival fibroblast. *Planta Med* 61: 150-153,1995
23. 이용무,구영,배기환,정종평: 후박 및 대조 추출혼합물이 골조직 재생에 미치는 영향. *대한치주과학회지* 27(1): 165-177, 1997
24. 신승윤,이용무,구영,배기환,정종평: 후박 및 홍화 종자 추출혼합물이 치주인대세포 및 골아세포의 활성도 및 백서의 두개골재생에 미치는 영향. *대한치주과학회지* 28: 545-557,1998
25. 류인철,이용무,구영,배기환,정종평: 홍화 추출물이 치주인대세포, 조골세포 활성도에 미치는 영향. *대한치주과학회지* 27: 867-882,1997
26. 정종평,구영,배기환: 후박 및 은행엽 추출물의 항균,항염 및 세포활성도에 미치는 영향. *대한치주과학회지* 25: 478-

486. 1995
27. 정종평,구영,배기환 : 은행엽 추출물이 치은섬유아세포에 미치는 생물학적 영향. *대한치주과학회지* 25:469-477,1995
28. 김태일,염혜리,류인철,배기환,정종평: 후박 및 은행엽 추출물을 함유한 치약의 임상 및 미생물학적 효과에 관한 연구. *대한치주과학회지* 26:542-556,1996
29. Shin SY, Lee YM, Ku Y, Ryu IC, Han SB, Choi SM, Bae KH, Chung CP: Effects of Magnoliae cortex and Zizyphi fructus extract mixtures on the progression of experimental periodontitis in Beagle dogs. *J Korean Acad Periodont* 29: 289-296,1999
30. Chang BS, Son SH, Chung CP, Bae KH: The effects of honokiol and magnolol on the antimicrobial,bacterial collagenase activity, cytotoxicity and cytokine production. *J Korean Acad Periodont* 23: 145-158,1993
31. 이승렬,정종평,최상묵,배기환: 천연물 추출물의 치주병인균에 대한 항균효과 및 세포독성에 관한 연구. *대한치주과학회지* 22: 515-526, 1992
32. Goldschmidt P, Cogen R, Taubman S: Cytopathologic effects of chlorhexidine on human cells. *J Periodontol* 48:212-215,1977
33. 김종관,채중규,조규성,문익상,최성호: Zea Mays L. 불검화 정량추출물의 치주염 치료 효과에 대한 임상적 연구. *대한치주과학회지* 21(2): 225- 234,1991
34. 최상묵,한수부,황광세: Zea Mays L. 불검화 정량추출물이 외과적 치주치료 후의 치유에 미치는 효과에 관한 임상적 연구. *대한치주과학회지* 19(1):63-70, 1989
35. 민원기,이만섭: Ascorbic acid와 Zea Mays L. 불검화 정량추출물이 치주염 치유에 미치는 영향에 관한 실험적 연구. *대한치주과학회지* 18(2):6-23,1988
36. Takagi,K., and Urist,M.R. : The reaction of the dura to bone morphogenetic protein(BMP) in repair of skull defects. *Ann Surg* 196:100, 1982
37. Michael B, Carol NB: Antimicrobial agents in prevention and treatment of periodontal disease. *Dent Clin North America* 217-241,1982
38. 김태일,최은정,정종평,한수부,구영: 옥수수 불검화 추출물(Zea Mays L.)과 후박(Magnoliae cortex) 추출물 혼합물의 치주질환원인균에 대한 항균작용 및 치은섬유아 세포 활성도에 미치는 영향. *대한치주과학회지* 32(1): 249-255, 2002

Figure 1. 4 weeks radiographic images of control group(A) and M:Z(2:1) II group(B). Note the significant radio-opaque objects around the circular defects shown in (B).

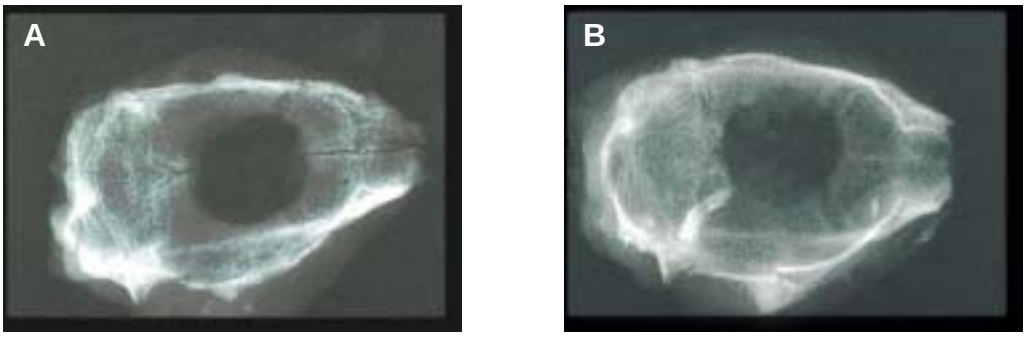


Figure 2. 6 weeks radiographic images of control group(A) and M:Z(2:1) II group(B). While radio-opaque tissue is rarely seen in (A), significant amount of radio-opaque object around circular defect is observed in (B).

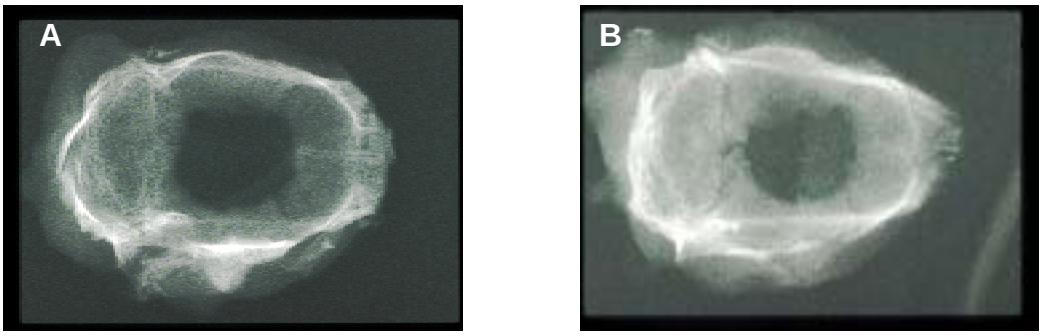


Figure 5. Cross sections of control group after 4 weeks. New bone formation is rare. Masson-Trichrome stain, x12.5

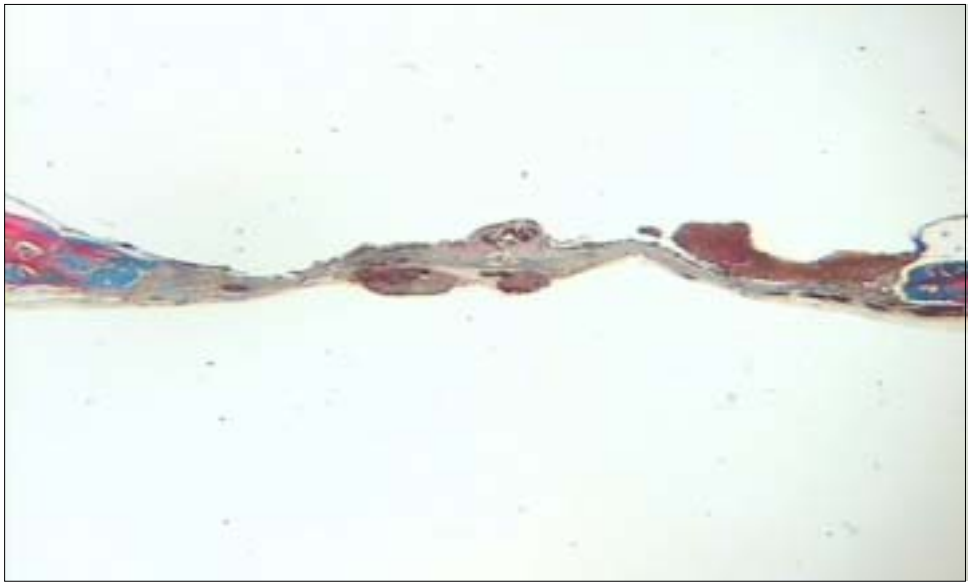


Figure 6. Cross sections of M:Z(2:1) II group after 4 weeks. Significant new bone formation is seen. (asterisks) Masson-Trichrome stain, x12.5

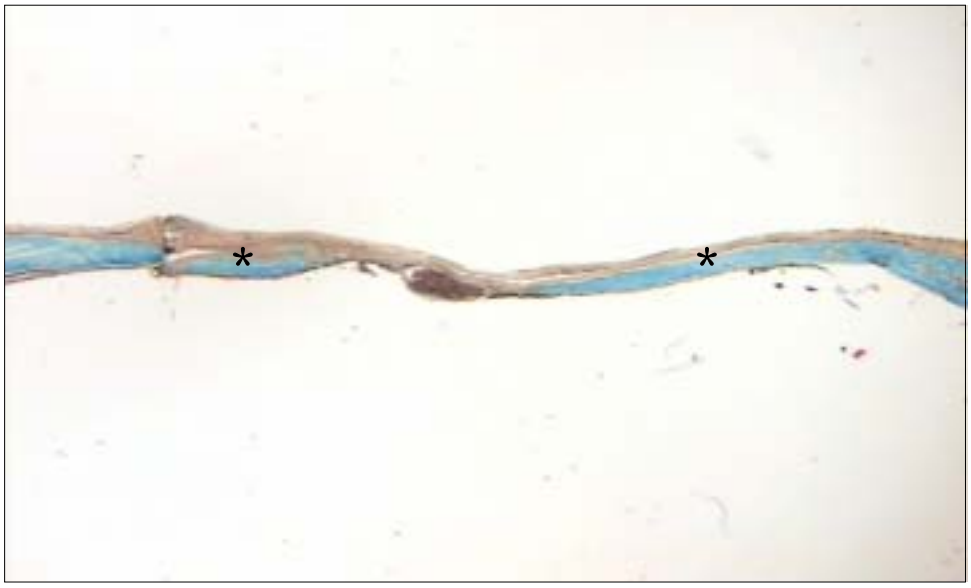
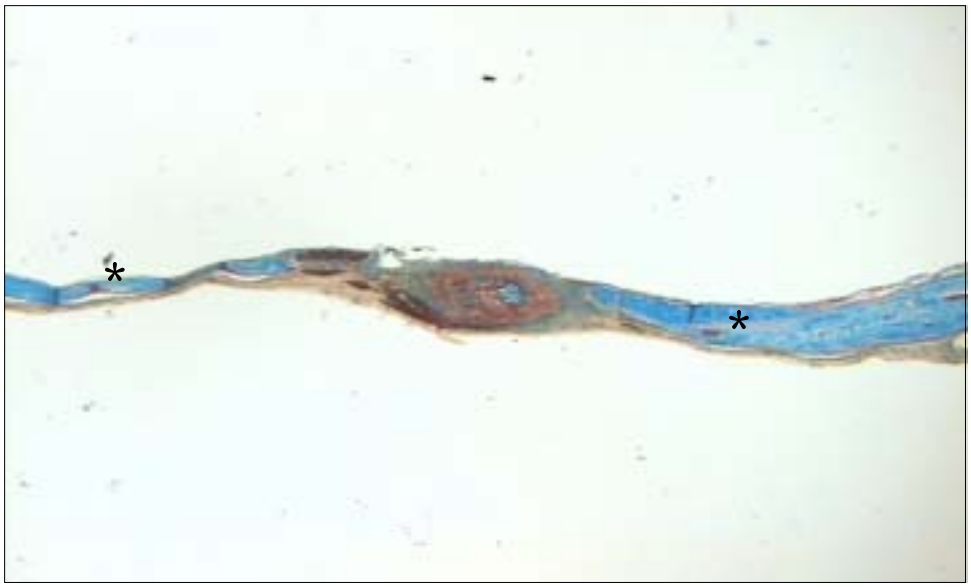


Figure 7. Cross sections of control group after 6 weeks. New bone formation is rare. Masson-Trichrome stain, x12.5

Figure 8. Cross sections of M:Z(2:1) II group after 6 weeks. Significant new bone formation is seen. (asterisks) Masson-Trichrome stain, x12.5



-Abstract-

Tissue Regenerative activity of Zea Mays L. and Magnoliae cortex extract mixtures

Tae-Il Kim, In-Cheol Rhyu, Chong-Pyoung Chung, Yong-Moo Lee, Young Ku
Department of Periodontology, College of Dentistry, Seoul National University

I. Purpose of Study

Zea Mays L. has been known to be effective for improving periodontal health and Magnoliae cortex to have effective antibacterial and antimicrobial activity against periodontal pathogens. The purpose of this study was to examine the biologic effects of Zea Mays L. and Magnoliae cortex extract mixtures on healing of rat calvarial bone defects.

II. Materials & Methods

8mm circular defects were prepared on rat calvaria during surgical procedures of 180 Sprague-Dawley rats. The ethanolic extracts of Magnoliae cortex and Zea Mays L. and these two natural extract 1:1 and 2:1 (Magnoliae: Zea Mays L.) ratio mixtures were oral administrated by oral zondes once a day at two different dose of 94.5mg/kg, 189mg/kg body weight. There are nine groups of rats in this study: control group (no sample loading), Magnoliae cortex extract loading groups (I,II)(94.5mg/kg,189mg/kg respectively), Zea Mays L. extract loading groups (I,II), M:Z(1:1) loading groups (I,II), M:Z(2:1) loading groups(I,II). Rats were sacrificed at 4 weeks and 6 weeks after surgery. New bone formations around calvarial defects were radiographically and histologically measured by computer-assisted histomorphometry. Each data was statistically analyzed by One-way ANOVA test.

III. Results

There were statistical significances between negative control group and the other test groups on radiographical and histological quantitative assessments. Among test groups, mixture groups showed statistical significances, especially, M:Z (2:1) groups (I and II) were highly significant.($p<0.05$)

These results implicated that the mixture of Magnoliae and Zea Mays L. (2:1 mixing ratio) with 94.5mg/kg concentration might be highly effective on the wound healing of bony defected site and have potential possibilities as a useful drug to promote bone tissue regeneration.

Key Words: Periodontal disease, Bone regeneration, Magnoliae cortex, Zea Mays L., Natural extract, Sprague-Dawley rat