

## 녹차 및 결명자 추출물의 교정용 브라켓과 치면 사이의 경계부에서 분리된 mutans streptococci에 대한 항균작용

임성훈<sup>1)</sup> · 서정순<sup>2)</sup> · 윤영주<sup>3)</sup> · 김광원<sup>4)</sup> · 유소영<sup>5)</sup> · 김화숙<sup>6)</sup> ·  
국중기<sup>7)</sup> · 이병래<sup>8)</sup> · 차종희<sup>9)</sup> · 박재윤<sup>10)</sup>

본 연구는 치아우식증에 관련된 Mutans streptococci 표준균주 및 임상분리 균주의 성장억제를 유도할 수 있는 천연 생약추출물을 검색하기 위하여 실시되었다. 녹차추출물은 CHMC-2032를 사용하였으며, 결명자 추출물은 50% 에탄올을 이용하여 얻었다. 이들 추출물의 Mutans streptococci 표준균주 및 교정환자들에서 브라켓과 치면 사이의 경계부에서 분리된 각각 10 균주씩의 *S. mutans* 및 *S. sobrinus*에 대한 최소성장억제농도를 액체배지 희석법으로 구하였다. 그 결과 CHMC-2032의 *S. mutans* 및 *S. sobrinus*의 표준 균주, *S. sobrinus*의 대부분 임상분리 균주에 대한 최소성장억제농도는 5 mg/ml이었다. 그러나 결명자 추출물에 의한 *S. mutans* 및 *S. sobrinus*에 대한 세균 성장억제 효과는 미미하였다. 본 연구 결과 치아우식증의 예방적 측면에서 결명자차보다는 녹차를 마시는 것이 유리하며, CHMC-2032를 이용하여 구강양치용액을 제조하여 사용할 경우 교정환자를 포함하여 대부분의 사람에게서 치아우식증 예방 효과가 있으리라고 추정된다.

( 주요 단어 : *Camellia sinensis*, *Casia tora*, Mutans streptococci, 치아우식증, 교정용 브라켓 )

### I. 서 론

치아우식증은 구강 내에서 발생하는 양대 구강병의 하나로 알려져 있다. 치아우식증의 발생에 있어서 미생물의 존재가 필수적임이 무균 동물을 이용한 실험 (Orland, 1959)에서 밝혀진 이후, 여러 연구에 의해 치면세균막(dental plaque) 내의 세균 중 *Streptococcus mutans*<sup>1,2)</sup>, *Lactobacillus* spp.<sup>3,4)</sup>, *Actinomyces* spp.<sup>5)</sup>가 치아우식증의 발생에 관여하는 것으로 알려져 왔다. 초기 연구 결과에 의하면, 이러한 세균들 중 *Streptococcus mutans*는 초기 평활치면 치아우식증, *Lactobacillus* 종들은 치아의 치면열구 치아우식증, *Actinomyces* 종들은 치근면 치아우식증 병소에 특히 연관성이 크다고 보고되었다. 그러나 최근 연구에 의하면 *Lactobacillus* 종들은 초기 치아우식증보다

- 1) 조선대학교 치과대학 교정학교실, 전임강사.
- 2) 조선대학교 치과대학 교정학교실, 대학원생.
- 3) 조선대학교 치과대학 교정학교실, 부교수.
- 4) 조선대학교 치과대학 교정학교실, 교수.
- 5) 조선대학교 치과대학 구강생화학교실, 전임연구원.
- 6) 조선대학교 치과대학 구강생화학교실, 대학원생.
- 7) 조선대학교 치과대학 구강생화학교실, 조교수.
- 8) 조선대학교 의과대학 생화학교실, 교수.
- 9) 조선대학교 의과대학 생화학교실, 교수.
- 10) 조선대학교 의과대학 생화학교실, 부교수.

교신저자 : 김광원

광주광역시 동구 서석동 375

조선대학교 치과대학 교정학교실 / 062-220-3870

kwkim@chosun.ac.kr

원고접수일 : 2003년 4월 22일 심사통과일 : 2003년 7월 1일

\*본 연구는 1999년 조선대학교 교내 학술 연구비의 지원을 받았음.

는 진행된 치아우식증 병소와 더 연관성이 많고, 치근면 치아우식증을 포함한 모든 치면의 치아우식증에는 *Streptococcus mutans*가 주요한 원인 세균으로 알려졌다<sup>6,7)</sup>. 현재 *S. mutans*와 더불어 치아우식증 유발과 연관이 있는 연쇄상구균 5종을 총칭하여 *mutans streptococci*라 하는 데, 여기에는 *S. sobrinus*, *S. downei*, *S. rattus*, 그리고 *S. cricetus* 종들이 포함된다<sup>8)</sup>.

교정식 교정장치를 이용한 교정환자의 치료에 있어서 치아우식증은 중요한 부작용 중의 하나다. 교정 환자에 있어서 치아우식증의 발병율은 환자의 구강위생 관리 능력, 타액분비 속도, 타액의 점도, 식생활 습관 등 환자의 특성과, 교정용 브라켓을 부착할 때 이용되는 시멘트의 종류<sup>9)</sup>나, 여분의 시멘트 제거 정도<sup>10)</sup> 등 교정에 사용되는 재료 및 교정 기술 등에 의해 영향받는 것으로 알려졌다. 교정식 교정장치 주위에서 치아우식증의 발병율이 높은 이유는 치면 세균막의 침착이 용이하고, 세균막을 효과적으로 제거하기 어렵기 때문이다<sup>11,12)</sup>. 따라서, 교정용 브라켓 및 밴드 주위의 치아우식증을 예방하기 위해서는 칫솔질 외에도 양치용액을 사용하는 것이 추천될 수 있다. 이러한 양치용액에는 essential oil, 불소, chlorhexidine 등이 사용되고 있으며, 특히 불소와 essential oil은 부작용이 적으면서 치아우식증 원인균인 *mutans streptococci* 중에 대하여 항세균 작용이 큰 것으로 알려져 있다. 그러나 chlorhexidine과 같은 화학살균제의 경우에는 입안에서 작열감을 유발시킬 수 있는 점 등의 문제가 있으며, 불소의 경우에는 0.2% 불소화물을 약 10ml정도 복용하였을 경우 복통을 일으킬 수 있다는 점과, 상수도불화사업을 전개하는 과정에서 제기된 논란으로 인해 일반인들이 거부감을 가지고 있는 경우가 있다는 것 등이 문제점이라고 할 수 있다. 이러한 화학합성 항세균제의 문제점들을 극복하기 위하여, 최근에는 천연물에서 추출한 새로운 항세균제의 개발에 대한 관심이 증가되고 있다.

녹차와 결명자차는 기호 식품으로 오래전부터 음용수로 많이 이용되어 왔다. 녹차에는 폴리페놀인 카테킨이 대량으로 함유되어 있는데, 폴리페놀은 항암성과 항산화성이 뛰어난 것으로 알려져 있다. 최근 녹차 카테킨의 항암성이 많은 연구자들에 의해서 입증되고 있으며, 녹차는 항균 작용이 있는 것으로 알려지고 있다.

본 연구는 치아우식증에 관련된 *mutans streptococci* 표준균주 및 임상분리 균주의 성장억제를 유도할 수 있는 천연 생약추출물을 검색하기 위하여 계획되었으며, 치아우식증의 원인 세균이라고 알려진 *mutans streptococci* 중 특히 *S. mutans* 및 *S. sobri-*

*nus*의 대표균주 및 교정환자에 브라켓과 치면의 경계부에서 채취된 *S. mutans* 및 *S. sobrinus* 균주들에 대한 녹차와 결명자차의 항균성을 규명함으로써 녹차와 결명자차가 고정식 교정장치 주변의 치아우식증 예방에 유익한지 여부를 밝히고자 시행되었다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 재료 및 추출

본 실험에 사용한 녹차 추출물(CHMC-2032)은 조선대학교 의과대학 생화학교실에서 제조하였다. 결명자 추출물을 제조하기 위해서 결명자(*Casia tora*)를 50% 에탄올 1,000ml 용매에 넣어서 4시간씩 2회 반복하여 추출한 에탄올 추출물을 여과포에서 일차 여과하여, 40℃, 60mmHg에서 용액의 양이 100ml가 될 때까지 감압 농축하였다. 농축액을 10℃에서 10,000×g로 15분간 원심 분리하여 상청액을 모아 건조하고, 이를 증류수로 혼탁하여 냉동 건조 시킨 후 결명자 추출물로 사용하였다.

### 2. 세균 및 세균 배양

본 실험에서는 *mutans streptococci*의 표준균주로는 *S. mutans* KCTC 3065 및 *S. sobrinus* KCTC 3088을 사용하였으며, 이들은 한국유전자은행(KCTC, Daejeon, Korea)에서 구입하여 사용하였다.

교정환자에서 분리한 균주로는 조선대학교 치과병원 교정과에서 고정식 교정장치를 부착하여 치료받고 있는 교정환자들의 브라켓과 치면 사이의 경계면에서 채취된 치면세균막에서 분리된 균주들 중, 무작위로 10 균주의 *S. mutans*와 10 균주의 *S. sobrinus*를 선택하여 사용하였다. 모든 *mutans streptococci* 균주들을 선택배지인 Mitis Salivaris-bacitracin(MSB; bacitracin 농도는 0.5µg/ml) 한천배지에 도말하여 37℃의 candle jar에서 48시간 배양하였다. MSB 한천배지에서 자라난 세균 중 한 균락을 채취하여 Todd Hewitt broth(TH broth, Difco Lab., Detroit, Mich. USA)에 접종하고, 37℃ CO<sub>2</sub> 세균 배양기에서 24시간 배양하여 다음의 실험에 사용하였다.

### 3. 최소억제농도(minimal inhibitory concentration : MIC) 측정

녹차 및 결명자 추출물의 *mutans streptococci*에

Table 1. The bacteria strains used in this study

| Species                       | strains      | biotype |                  |
|-------------------------------|--------------|---------|------------------|
| <i>Streptococcus mutans</i>   | KCTC* 3065   | I       | type strain      |
| <i>S. mutans</i>              | ChDC** 2111  | I       | clinical isolate |
| <i>S. mutans</i>              | ChDC 9111    | I       | clinical isolate |
| <i>S. mutans</i>              | ChDC 21141   | I       | clinical isolate |
| <i>S. mutans</i>              | ChDC 5246    | II      | clinical isolate |
| <i>S. mutans</i>              | ChDC 13217-1 | II      | clinical isolate |
| <i>S. mutans</i>              | ChDC 17121   | II      | clinical isolate |
| <i>S. mutans</i>              | ChDC 31125   | II      | clinical isolate |
| <i>S. mutans</i>              | ChDC 43235   | II      | clinical isolate |
| <i>S. mutans</i>              | ChDC 55245   | III     | clinical isolate |
| <i>S. mutans</i>              | ChDC 62215   | V       | clinical isolate |
| <i>Streptococcus sobrinus</i> | KCTC 3088    | IV      | type strain      |
| <i>S. sobrinus</i>            | ChDC 1111    | IV      | clinical isolate |
| <i>S. sobrinus</i>            | ChDC 1147    | IV      | clinical isolate |
| <i>S. sobrinus</i>            | ChDC 57215   | IV      | clinical isolate |
| <i>S. sobrinus</i>            | ChDC 57231   | IV      | clinical isolate |
| <i>S. sobrinus</i>            | ChDC 58121   | IV      | clinical isolate |
| <i>S. sobrinus</i>            | ChDC 59242   | IV      | clinical isolate |
| <i>S. sobrinus</i>            | ChDC 40125   | IV      | clinical isolate |
| <i>S. sobrinus</i>            | ChDC 45111   | IV      | clinical isolate |
| <i>S. sobrinus</i>            | ChDC 45135   | IV      | clinical isolate |
| <i>S. sobrinus</i>            | ChDC 59236   | IV      | clinical isolate |

KCTC\* : Korean Collection For Type Cultures

ChDC\*\* : Department of Oral Biochemistry, College of Dentistry, Chosun University

대한 최소억제농도(minimal inhibitory concentration; MIC)는 Murray와 Jorgensen<sup>13)</sup>의 방법에 따라 액체 배지 희석법으로 측정하였다. 이때 각 추출물의 농도가 5, 2.5, 1.25, 0.63, 0.32, 0.16, 0.08, 0.04, 0.02, 0.01 µg/ml가 되도록 각각 조절된 0.1ml의 액체배지에, Microplate Autoreader(Model; EL311SX, BIO-TEX Instruments Inc., Cortland, NY, USA)를 이용하여 450nm의 파장에 대한 흡광도(A<sub>450</sub>)가 0.1로 일정하게 현탁된 세균배양액을 각각 0.1ml씩 접종하였다. 접종된 배양액을 37°C CO<sub>2</sub> 세균 배양기에서 36시간 배양한 후, Microplate Aut

oreader를 이용하여 450nm에서 흡광도를 측정하여 음성대조군인 100µg/ml의 ampicillin과 동일한 효과 시 MIC 값으로 결정하였다. 이때 양성대조군은 천연물 추출물이나 ampicillin을 넣지 않은 세균 배양액으로 하였다.

### III. 연구결과

본 연구에서는 녹차 및 결명자 추출물에 대한 세균 억제 효과를 추출물이나 항생제를 넣지 않은 배지에

Table 2. MIC of *Camellia sinensis* extract (CHMC-2032) and *Casia tora* extract against *S. mutans* and *S. sobrinus*.

| Strains            | MIC (mg/ml)                                  |                   |
|--------------------|--|-------------------|
|                    | <i>Camellia sinensis</i> extract (CHMC-2032) | <i>Casia tora</i> |
| <i>S. mutans</i>   |  |                   |
| KCTC 3065          | 5  | >5                |
| ChDC 2111          | >5   | >5                |
| ChDC 9111          | >5   | >5                |
| ChDC 21141         | 2.5  | >5                |
| ChDC 5246          | >5   | >5                |
| ChDC 13217-1       | 2.5  | >5                |
| ChDC 17121         | >5   | >5                |
| ChDC 31125         | >5   | >5                |
| ChDC 43235         | 5  | >5                |
| ChDC 55245         | 2.5  | >5                |
| ChDC 62215         | >5   | >5                |
| <i>S. sobrinus</i> |  |                   |
| KCTC 3088          | 5  | >5                |
| ChDC 1111          | 5  | >5                |
| ChDC 1147          | 2.5  | >5                |
| ChDC 57215         | 5  | >5                |
| ChDC 57231         | 2.5  | >5                |
| ChDC 58121         | 2.5  | >5                |
| ChDC 59242         | 5  | >5                |
| ChDC 40125         | 2.5  | >5                |
| ChDC 45111         | 5  | >5                |
| ChDC 45135         | >5   | >5                |

>5: MIC was not detected at or below 5 mg/ml concentration

서 배양한 세균의 성장정도를 '100'으로 하여 각각의 추출물의 농도에 따른 세균의 성장 정도를 표기하였다(Table 3, 4). 녹차 추출물 CHMC-2032의 표준균주 *S. mutans* KCTC 3065와 *S. sobrinus* KCTC 3088에 대한 MIC 값은 5mg/ml이었다(Table 2). 환자에서 직접 분리한 *S. mutans*에 대한 녹차 추출물 CHMC-2032의 MIC 값은 본 실험에서 사용한 5mg/ml 이하에

서는 구할 수 없었지만, 농도 의존적으로 세균 성장이 감소하는 경향을 보였다(Table 3). 녹차 추출물 CHMC-2032의 환자에서 직접 분리한 *S. sobrinus* 균주에 대한 MIC 값은 *S. sobrinus* ChDC 57215와 *S. sobrinus* ChDC 45135 균주를 제외하고는 5mg/ml이었다(Table 2). 하지만 *S. sobrinus* ChDC 57215와 *S. sobrinus* ChDC 45135 두 균주들도 CHMC-2032에

**Table 3.** Relative growth rate of *S. mutans* and *S. sobrinus* according to the concentration of CHMC-2032 (*Camellia sinensis* extract).

| Concentration<br>(mg/ml) | 0*           | 0.32         | 0.63       | 1.25        | 2.50        | 5.00         |
|--------------------------|--------------|--------------|------------|-------------|-------------|--------------|
| <i>S. mutans</i>         |              |              |            |             |             |              |
| KCTC 3065                | 100.0 ± 0.0  | 121.3 ± 0.0  | 50.6±13.0  | 14.8 ± 5.8  | 22.3 ± 8.4  | -21.9 ± 12.5 |
| ChDC 2111                | 100.0 ± 0.9  | 111.6 ± 4.5  | 105.5±5.8  | 66.0 ± 0.4  | 45.7 ± 9.1  | 27.9 ± 51.0  |
| ChDC 9111                | 100.0 ± 2.1  | 122.6 ± 0.9  | 132.0±1.4  | 81.4 ± 5.9  | 38.9 ± 6.9  | 61.8 ± 15.8  |
| ChDC 21141               | 100.0 ± 3.8  | 106.8 ± 5.4  | 103.2±4.0  | 44.4 ± 4.4  | 13.4 ± 10.2 | 26.1 ± 13.1  |
| ChDC 5246                | 100.0 ± 12.7 | 119.1 ± 0.8  | 101.0±12.1 | 68.4 ± 6.9  | 35.7 ± 3.5  | 61.5 ± 9.6   |
| ChDC 13217-1             | 100.0 ± 7.5  | 131.8 ± 5.8  | 125.0±7.8  | 45.0 ± 10.6 | 6.3 ± 0.9   | 3.3 ± 29.5   |
| ChDC 17121               | 100.0 ± 0.5  | 121.3 ± 1.4  | 120.6±2.2  | 67.9 ± 0.3  | 43.1 ± 0.8  | 72.0 ± 7.5   |
| ChDC 31125               | 100.0 ± 5.0  | 123.9 ± 0.2  | 140.4±3.8  | 80.3 ± 0.3  | 31.3 ± 13.5 | 63.4 ± 6.4   |
| ChDC 43235               | 100.0 ± 3.7  | 141.4 ± 6.3  | 136.3±13.8 | 64.3 ± 8.1  | 33.7 ± 22.7 | 8.3 ± 7.4    |
| ChDC 55245               | 100.0 ± 0.9  | 116.0 ± 2.8  | 114.3±0.9  | 52.9 ± 2.6  | 4.1 ± 8.2   | 21.1 ± 19.6  |
| ChDC 62215               | 100.0 ± 4.5  | 93.6 ± 26.5  | 101.5±32.9 | 61.5 ± 9.4  | 20.9 ± 3.6  | 22.3 ± 16.3  |
| <i>S. sobrinus</i>       |              |              |            |             |             |              |
| KCTC 3088                | 100.0 ± 1.5  | 117.6 ± 14.3 | 60.3±2.5   | 42.7 ± 4.8  | 14.4 ± 20.3 | -22.5 ± 2.3  |
| ChDC 1111                | 100.0 ± 3.1  | 106.1 ± 2.2  | 80.8±4.3   | 46.9 ± 3.8  | 30.9 ± 9.6  | -5.2 ± 23.2  |
| ChDC 1147                | 100.0 ± 2.9  | 112.2 ± 2.2  | 87.9±3.4   | 38.4 ± 5.5  | 12.2 ± 2.3  | -9.6 ± 16.6  |
| ChDC 57215               | 100.0 ± 4.8  | 127.9 ± 0.0  | 119.2±4.6  | 88.7 ± 2.9  | 42.0 ± 1.9  | 6.2 ± 18.4   |
| ChDC 57231               | 100.0 ± 4.2  | 118.5 ± 5.1  | 110.2±1.4  | 54.5 ± 3.7  | 4.2 ± 1.1   | -6.3 ± 7.5   |
| ChDC 58121               | 100.0 ± 2.8  | 108.9 ± 0.4  | 85.7±2.9   | 34.4 ± 1.5  | 7.5 ± 8.0   | -55.8 ± 20.1 |
| ChDC 59242               | 100.0 ± 10.3 | 116.4 ± 5.0  | 107.1±5.5  | 70.4 ± 1.2  | 26.9 ± 3.3  | -21.2 ± 6.2  |
| ChDC 40125               | 100.0 ± 2.1  | 112.8 ± 2.7  | 91.2±2.3   | 29.0 ± 8.0  | 12.4 ± 8.3  | -5.9 ± 2.0   |
| ChDC 45111               | 100.0 ± 3.7  | 117.5 ± 0.3  | 104.6±3.4  | 76.0 ± 1.3  | 21.0 ± 5.2  | -15.3 ± 8.2  |
| ChDC 45135               | 100.0 ± 11.1 | 132.3± 1.0   | 140.2±1.5  | 95.7 ± 1.5  | 45.6 ± 0.4  | 52.4 ± 0.7   |

\*: Growth rate of *S. mutans* and *S. sobrinus* cultured without CHMC-2032 or antibiotics

농도 의존적으로 세균 성장이 억제되었다(Table 3).

결명자 추출물의 표준균주 *S. mutans* KCTC 3065와 *S. sobrinus* KCTC 3088에 대한 MIC 값은 본 실험에서 사용한 5mg/ml 이하에서는 구할 수 없었다(Table 2, 4). 결명자 추출물은 환자에서 직접 분리한 *S. mutans* 및 *S. sobrinus* 균주들에 대한 세균 성장 억제 효과가 없었으며, 오히려 세균 성장을 증가시키는 경향을 보였다(Table 4).

#### IV. 총괄 및 고안

녹차는 차나무 잎을 발효하지 않고 뜨거운 물에 우려낸 불발효차의 일종으로 반발효차(발효율이 10-65%)인 백차, 화차, 포종차 및 우롱차, 발효차(발효율이 85% 이상)인 홍차 그리고, 후 발효차(차를 만들어 완전히 건조되기 전에 곰팡이가 번식하도록 해 곰팡이에 의해 자연발효가 일어난 차)인 황차나 흑차와

Table 4. Relative growth rate of *S. mutans* and *S. sobrinus* according to the concentration of *Casia tora* extract.

| Concentration<br>(mg/ml) | 0*           | 0.32         | 0.63         | 1.25        | 2.50         | 5.00         |
|--------------------------|--------------|--------------|--------------|-------------|--------------|--------------|
| <i>S. mutans</i>         |              |              |              |             |              |              |
| KCTC 3065                | 100.0 ± 12.3 | 114.3 ± 3.0  | 22.5 ± 5.7   | 17.3 ± 1.1  | 69.7 ± 27.8  | 160.5 ± 3.0  |
| ChDC 2111                | 100.0 ± 0.7  | 123.6 ± 1.6  | 127.6 ± 5.6  | 135.9 ± 5.3 | 158.0 ± 11.4 | 154.7 ± 32.5 |
| ChDC 9111                | 100.0 ± 1.7  | 117.5 ± 4.2  | 123.6 ± 2.2  | 136.7 ± 1.3 | 166.6 ± 4.9  | 187.5 ± 1.4  |
| ChDC 21141               | 100.0 ± 1.0  | 129.6 ± 5.5  | 129.2 ± 6.4  | 132.3 ± 7.9 | 104.6 ± 68.8 | 162.3 ± 5.5  |
| ChDC 5246                | 100.0 ± 2.4  | 124.0 ± 2.4  | 132.6 ± 4.6  | 140.9 ± 0.0 | 159.9 ± 8.2  | 150.4 ± 49.0 |
| ChDC 13217-1             | 100.0 ± 2.9  | 116.5 ± 0.4  | 125.2 ± 0.7  | 139.7 ± 6.4 | 158.7 ± 7.8  | 129.9 ± 84.5 |
| ChDC 17121               | 100.0 ± 19.0 | 134.5 ± 0.3  | 133.0 ± 1.6  | 142.7 ± 3.5 | 160.3 ± 3.1  | 193.4 ± 4.8  |
| ChDC 31125               | 100.0 ± 1.4  | 115.0 ± 1.0  | 124.2 ± 2.7  | 133.6 ± 1.7 | 179.2 ± 1.4  | 188.8 ± 7.3  |
| ChDC 43235               | 100.0 ± 4.9  | 123.4 ± 4.4  | 127.5 ± 1.8  | 132.1 ± 3.0 | 161.1 ± 3.0  | 155.9 ± 9.4  |
| ChDC 55245               | 100.0 ± 0.7  | 118.8 ± 1.3  | 121.4 ± 0.1  | 123.4 ± 0.4 | 144.3 ± 2.9  | 151.8 ± 4.3  |
| ChDC 62215               | 100.0 ± 2.2  | 118.9 ± 1.0  | 132.5 ± 0.7  | 151.5 ± 0.7 | 168.0 ± 1.0  | 161.2 ± 4.8  |
| <i>S. sobrinus</i>       |              |              |              |             |              |              |
| KCTC 3088                | 100.0 ± 6.1  | 133.5 ± 6.1  | 37.4 ± 6.1   | 30.2 ± 4.6  | 58.7 ± 6.8   | 177.2 ± 4.6  |
| ChDC 1111                | 100.0 ± 1.7  | 119.2 ± 4.2  | 61.6 ± 2.7   | 38.1 ± 2.2  | 120.0 ± 2.5  | 112.9 ± 20.5 |
| ChDC 1147                | 100.0 ± 0.1  | 121.4 ± 4.5  | 71.4 ± 1.4   | 34.6 ± 2.3  | 114.4 ± 4.8  | 123.3 ± 8.7  |
| ChDC 57215               | 100.0 ± 4.6  | 128.3 ± 1.5  | 126.8 ± 1.8  | 132.2 ± 1.5 | 151.2 ± 0.5  | 151.9 ± 0.4  |
| ChDC 57231               | 100.0 ± 0.9  | 115.3 ± 0.3  | 121.8 ± 6.5  | 134.4 ± 7.5 | 142.3 ± 6.8  | 155.5 ± 15.2 |
| ChDC 58121               | 100.0 ± 1.1  | 119.3 ± 0.3  | 116.9 ± 3.4  | 98.2 ± 9.5  | 111.4 ± 3.7  | 98.7 ± 3.9   |
| ChDC 59242               | 100.0 ± 20.5 | 119.9 ± 16.3 | 128.0 ± 15.5 | 128.2 ± 9.7 | 116.0 ± 13.2 | 120.0 ± 13.8 |
| ChDC 40125               | 100.0 ± 0.3  | 120.4 ± 5.2  | 76.7 ± 1.6   | 51.2 ± 0.3  | 106.4 ± 6.7  | 120.3 ± 2.6  |
| ChDC 45111               | 100.0 ± 4.6  | 120.4 ± 6.0  | 122.2 ± 7.3  | 122.6 ± 8.2 | 113.3 ± 17.7 | 137.5 ± 10.2 |
| ChDC 45135               | 100.0 ± 2.4  | 127.9 ± 0.3  | 130.9 ± 0.6  | 133.2 ± 0.3 | 150.4 ± 1.5  | 177.1 ± 7.1  |

\* : Growth rate of *S. mutans* and *S. sobrinus* cultured without *Casio tora* extract or antibiotics

구별이 된다. 이러한 녹차의 주요성분 중 하나인 카테킨(catechin)은 폴리페놀성 천연화합물로서 간세포의 세포막 유동성 조절을 통한 간세포의 보호 기능<sup>14)</sup>뿐만 아니라 항우식 기능도 가지고 있는 것으로 보고되었다. 카테킨 성분은 녹차뿐만 아니라 우롱차, 흑차 그리고 홍차에도 존재하며, 항우식 작용 기전은 세포 외다당류인 glucan의 합성에 관여하는 glycosyltransferase(GTF)의 활성을 억제하는 것과 관계되는

것으로 알려져 있다<sup>15,16,17,18)</sup>. 즉, *S. mutans*가 치면세균막에 집락을 형성 시 부착에 관여하고, 외부의 영양공급이 차단되었을 때 에너지원으로도 사용될 수 있는 세포의 다당류인 glucan의 합성을 차단함으로써 치면세균막에서 *S. mutans*의 서식 조건을 불리하게 하여 항우식작용을 나타낸다고 알려져 있다. 이러한 glycosyltransferase(GTF) 활성 억제효과는 사과에서 추출된 폴리페놀에 의해서도 나타난다<sup>19)</sup>. 그러나

녹차에서 추출한 폴리페놀류와는 달리 사과에서 추출된 폴리페놀은 *S. mutans*의 성장에는 아무런 영향을 미치지 못하는 것으로 보고되었다<sup>19,20</sup>. 우롱차에서 추출한 카테킨은 mutans streptococci의 산 생성능을 억제하여 또 다른 항우식 효과를 나타낸다는 것이 보고되기도 하였다<sup>21</sup>. 이러한 연구 결과는 식물에 따른 폴리페놀류의 항세균 작용에 차이가 있음을 시사해 준다.

본 연구에서 사용한 녹차추출물인 CHMC-2032는 alpha-amylase의 활성 억제를 보이는 성질의 폴리페놀류를 포함하고 있다. 하지만, 현재로서는 CHMC-2032에 포함되어 있는 폴리페놀류가 일반적으로 녹차에 함유되어 있는 (+)-catechin, (-)-epicatechin, (+)-gallocatechin, (+)-epigallocatechin, (-)-epigallocatechin gallate, (-)-epicatechin gallate 중 어떤 것인지는 알 수 없다.

CHMC-2032의 표준 균주인 *S. mutans* KCTC 3065와 *S. sobrinus* KCTC 3088에 대한 세균 성장 억제 효과는 동일하였지만(최소성장억제농도가 5mg/ml), 교정환자로부터 분리된 균주들에 대한 효과에서는 차이가 있었다. 비록 CHMC-2032의 농도가 증가함에 따라 모든 임상에서 분리된 균주들의 성장이 억제되었지만, *S. mutans*들은 *S. sobrinus*들보다 CHMC-2032에 대한 저항성이 큰 경향을 보였다(Table 2, 3).

*S. sobrinus* ChDC 57215와 *S. sobrinus* ChDC 45135는 다른 임상분류 균주에 비하여 CHMC-2032에 대한 저항성이 큰 것으로 나타났다(Table 3). 특히, *S. sobrinus* ChDC 45135의 경우 CHMC-2032 농도가 2.5mg/ml인 경우보다 5mg/ml인 경우에 보다 성장률이 증가하는 경향을 보였다. 현재로서는 이러한 현상에 대해 정확한 이유를 설명할 수 없지만, 아마도 CHMC-2032 성분의 증가에 의한 CHMC-2032과 *S. sobrinus* ChDC 45135에서만 만들어지는 대사 산물간의 응집현상에 의한 현상 또는 CHMC-2032 성분의 증가에 의한 *S. sobrinus* ChDC 45135의 역반응에 의한 현상이라 추측된다.

본 연구에 사용된 결명자 추출물에 대한 표준 균주인 *S. mutans* KCTC 3065와 *S. sobrinus* KCTC 3088에 대한 세균 성장 억제 효과는 0.63 및 1.25mg/ml에서 최고 효과를 보였다가 이보다 농도가 증가함에 따라 세균의 성장 억제 효과가 상실되었다(Table 3). 이러한 현상은 임상분류 균주 중 *S. sobrinus* ChDC 1111, *S. sobrinus* ChDC 1147 및 *S. sobrinus* ChDC 40125에서도 관찰되었다(Table 4). 이는 CHMC-2032의

ChDC 57215의 *S. sobrinus*, ChDC 45135의 *S. sobrinus*에 대한 세균 성장 억제 효과와 비슷한 양상을 나타내는 것이며, 이러한 현상을 설명하기 위한 연구가 차후에 필요하리라 생각된다. 본 연구 결과 결명자 추출물의 *S. mutans* 및 *S. sobrinus*에 대한 세균 성장 억제 효과는 미미한 것으로 판단되며, 따라서 치아우식증의 예방적 측면에서는 결명자차보다는 녹차를 마시는 것이 더 효과적이라고 판단된다.

향후 CHMC-2032 또는 녹차를 이용한 치아우식증 예방 목적의 양치용액의 효용성을 알아보기 위한 임상 실험을 시행하는 것이 필요하다고 생각된다.

## V. 결 론

치아우식증에 관련된 mutans streptococci 표준균주 및 교정환자들에서 브라켓과 치면 사이의 경계부에서 분리된 균주의 성장억제를 유도할 수 있는 천연 생약 추출물을 검색하기 위하여 녹차추출물(CHMC-2032) 및 결명자 50% 에탄올 추출물을 이용하여 mutans streptococci의 표준균주에 대한 최저성장억제농도를 구하고, 교정 환자에서 분리한 10 균주씩의 *S. mutans* 및 *S. sobrinus*에 대한 성장 억제능을 알아본 결과,

1. 녹차 추출물 CHMC-2032의 *S. mutans* 대표균주 KCTC 3065와 *S. sobrinus* 대표균주 KCTC 3088에 대한 MIC 값은 5mg/ml으로, 항세균 작용을 보였다.
2. 녹차 추출물 CHMC-2032의 교정환자들에서 분리된 *S. sobrinus*에 대한 MIC 값은 *S. sobrinus* ChDC 57215와 *S. sobrinus* ChDC 45135 균주를 제외하고는 5mg/ml이었으며, 항세균 작용을 보였다.
3. 결명자 추출물은 *S. mutans* 및 *S. sobrinus* 균주들에 대한 세균 성장 억제 효과를 보이지 않았다.

본 연구 결과 치아우식증의 예방적 측면에서는 결명자차보다는 녹차를 마시는 것이 유리하다고 판단되며, CHMC-2032 또는 녹차를 이용한 구강용액 양치를 할 경우 교정환자를 포함한 대부분의 사람에게서 치아우식증 예방에 효과가 있으리라고 추정된다.

## 참 고 문 헌

1. Fitzgerald RJ, Keyes PH. Demonstration of the etologic role of streptococci in experimental caries in the hamster. JADA. 1960; 61: 9-19.
2. Michalek SM, McGhee JR, Shiota T, Devenyns D. Virulence of Strep-

- tococcus mutans: Cariogenicity of S mutans in adult gnotobiotic rats. Infect Immun 1977 : 15 : 466-71.
3. De Stoppelaar JD, van Houte J, Backer Dirks O. The relationship between extracellular polysaccharide-producing streptococci and smooth surface caries in 13-year-old children. Caries Res 1969 : 3 : 190-9.
  4. Krasse B. Relationship between caries activity and the number of lactobacilli in the oral cavity. Acta Odont Scand 1954 : 12 : 157-72.
  5. Jordan HV, Keyes PH, Bellack S. Periodontal lesions in hamsters and gnotobiotic rats infected with actinomyces of human origin. J Periodont Res 1972 : 7 : 21-8.
  6. Gibbons RJ, Nygaard M. Synthesis of insoluble dextran and its significance in the formation of gelatinous deposits by plaque-forming streptococci. Arch Oral Biol 1968 : 13 : 1249-62.
  7. Loesche WJ. Dental Caries: a treatable infection. Charles C Thomas, Publisher, Springfield, 1982.
  8. Whaley RA, Beighton D. Current classification of the oral streptococci. Oral Microbiol Immunol 1998 : 13 : 195-216.
  9. Hallgren A, Oliveby A, Twetman S. Caries associated microflora in plaque from orthodontic appliances retained with glass ionomer cement. J Dent Res 1992 : 100 : 140-3.
  10. Sukontapatipark W, el-Agroudi MA, Sellisetth NJ, Thunold K, Selvig K. Bacterial colonization associated with fixed orthodontic appliances. Eur J Orthod 2001 : 23 : 475-84.
  11. Artun J, Brobakken BO. Prevalence of carious white spots after orthodontic treatment with multibonded appliances. Europ J Orthod 1986 : 8 : 229-34.
  12. Gorelick L, Geiger AM, Gwinnett AJ. Incidence of white spot formation after bonding and banding. Am J Orthod 1982 : 81 : 93-8.
  13. Murray PR, Jorgensen JH. Quantitative susceptibility test methods in major united states medical center. Antimicrob Agents Chemother 1981 : 20 : 66-70.
  14. Tsuchiya H. Effects of green tea catechins on membrane fluidity. Pharmacology 1999 : 59 : 34-44.
  15. Hamada S, Kontani M, Hosono H. et. al. Peroxidase-catalyzed generation of catechin oligomers that inhibit glucosyltransferase from Streptococcus sobrinus. FEMS Microbiol Lett 1996 : 143 : 35-40.
  16. Hattori M, Kusumoto IT, Namba T, Ishigami T, Hara Y. Effect of tea polyphenols on glucan synthesis by glucosyltransferase from Streptococcus mutans. Chem Pharm Bull(Tokyo) 1990 : 38 : 717-20.
  17. Ooshima T, Minami T, Matsumoto M, Fujiwara T, Sobue S, Hamada S. Comparison of the cariostatic effects between regimens to administer oolong tea polyphenols in SPF rats. Caries Res 1998 : 32 : 75-80.
  18. Sarkar S, Sett P, Chowdhury T, Ganguly DK. Effect of black tea on teeth. J Indian Soc Pedod Prev Dent. 2000 : 18 : 139-40.
  19. Yanagida A, Kanda T, Tanabe M, Matsudaira F, Oliveira Cordeiro JG. Inhibitory effects of apple polyphenols and related compounds on cariogenic factors of mutans streptococci. J Agric Food Chem 2000 : 48 : 5666-71.
  20. Kitamura K, Loyola JP, Sobue S. Inhibitory effects of a hot water extract from Japanese tea on the cell growth of mutans streptococci. Shoni Shikagaku Zasshi 1990 : 28 : 618-22.
  21. Matsumoto M, Minami T, Sasaki H. et. al. Inhibitory effects of oolong tea extract on caries-inducing properties of mutans streptococci. Caries Res 1999 : 33 : 441-5.

- ABSTRACT -

## Effect of Leaf-Extract from *Camellia sinensis* and Seed-Extract from *Casia tora* on Viability of Mutans Streptococci isolated from the interface between orthodontic brackets and tooth surfaces

Sung-Hoon Lim<sup>1)</sup>, Jeong-Soon Seo<sup>1)</sup>, Young-Jooh Yoon<sup>1)</sup>, Kwang-Won Kim<sup>1)</sup>, So Young Yoo<sup>2)</sup>, Hwa-Sook Kim<sup>2)</sup>, Joong-Ki Kook<sup>2)</sup>, Byoung-Rai Lee<sup>3)</sup>, Jong-Hee Cha<sup>3)</sup>, and Jae-Yoon Park<sup>3)</sup>

<sup>1)</sup>Department of Orthodontics, and <sup>2)</sup>Department of Oral Biochemistry, College of Dentistry, and <sup>3)</sup>Department of Biochemistry, Medical college, Chosun University.

Mutans streptococci is the major causative factor in dental caries. Especially, orthodontic patients with fixed appliance are a risk group for dental caries. Because fixed appliances attached on teeth may change the environment of dental plaque, the enamel decalcification or dental caries around the bracket and band is a major side effect of orthodontic treatment. The aim of this study was to search plant extracts that have antimicrobial effect on mutans streptococci. Seed-extract of *Casia tora* were prepared with ethanol and CHMC-2032, the leaf-extracts from *Camellia sinensis* extract, was obtained



extract, 2 type strains and 20 clinical isolates of mutans streptococci isolated from the interface between orthodontic brackets and tooth surfaces in the orthodontic patients were used in this study. The minimal inhibitory concentration of CHMC-2032 was 5 mg/ml on the *S. mutans* KCTC 3065, *S. sobrinus* KCTC 3088, and 8 clinical isolates of *S. sobrinus*. However, there was no antibacterial effect of seed-extract of *C. tora* on mutans streptococci. These data suggest that green tea may be more effective than the tea prepared from *C. tora* in the prevention of enamel decalcification or dental caries around brackets.

KOREA. J. ORTHOD. 2003 : 33(5) : 381-9

---

※ **Key words** : *Camellia sinensis*, *Casia tora*, Mutans streptococci, Dental caries, Orthodontic bracket