

자몽종자추출물과 자일리톨이 배합된 껌의 치은염 예방 및 항균효과

진미성¹ · 유윤정² · 최봉규³ · 이희영² · 김미정² · 노희진⁴
박종섭⁴ · 조규성¹ · 김종관¹ · 최성호¹

¹연세대학교 치과대학 치주과학교실, 치주조직 재생연구소, BK 21 의과학 사업단

²연세대학교 치과대학 구강생물학교실, 구강과학연구소

³서울대학교 치과대학 구강악안면 감염 면역학

⁴동양제과연구소

I. 서론

껌은 비교적 많은 사람들이 즐기는 기호식품 중 하나라고 할 수 있는데, 껌 씹기는 그 풍미가 주는 미각적 즐거움 외에 부가적으로 구강과 치아 건강에 도움을 줄 수 있는 잠재력을 가지고 있다.¹⁾ 그러나 껌 씹기가 실질적으로 구강 위생 증진에 도움이 되는지는 여전히 논란의 대상으로서 기계적 청결 작용과 타액 분비 촉진에 의한 우식 예방효과와 감미료로 사용되는 당류로 인한 잠재적 우식 위험성 사이에 논란이 있어 왔다. 당류에 의한 우식 유발 위험성 때문에 여러 가지 대체 당류가 껌의 감미료로 이용되고 있는데, 이런 대체 당류 중 대표적인 것이 자일리톨(xylitol)이라 할 수 있다. 자일리톨은 알코올기를 포함하는 5탄당으로서 설탕과 유사한 당도를 지니며 비우식성 식품으로 알려져 있다.²⁾ 자일리톨 등의 대체 당류가 첨가된 껌에 대한 실험에서는 초기 우식 병소의 재광화와 우식유발균의 감소 등을 포함하여 항우식 작용이 있다는 연구결과도 있지만,^{2,3)} 치태형성 감소에 효과가 없다는 연구 결과도 있다.⁴⁾

치주조직의 건강을 장기간 유지시키고 증진시키기 위해서는 치주질환을 일으키는 주원인 요소인 치태를 조절하는 것이 무엇보다 중요하다 할 수 있다. 치태 조절법의 가장 기본적인 방법은 칫솔질이며 그 외 보조적인 방법으로 다양한 수단이 사용되고 있다. 껌의 항치은염 효과도 여러 연구자에 의해 연구된 바 있다. 껌씹기가 치아우식에 취약한 교합면의 치태를 감소시키는 데는 효과가 있지만 치은염 예방에 있어 중요한 치경부 치태를 감소시키는 데는 효과가 없다는 연구결과가 있는 반면,¹⁾ chlorhexidine과 같은 화학적 치태 조절제를 껌에 첨가하여 씹도록 하였을 때 chlorhexidine rinse와 유사한 치은 건강 증진 효과를 나타내고⁵⁾ 자가 치태조절에 있어 제약이 따르는 노인에서 chlorhexidine/자일리톨 껌을 장기간 사용케 함으로써 구강위생 증진의 효과를 볼 수 있다는 보고도 있다.⁶⁾

자몽종자 (grapefruit seed)는 limonoid, limonoid glucoside 및 naringenin, naringin, quercetrin, kaempferol, hesperetin, apigenin 등 수종의 flavonoid 와 stigmasterol, campesterol, β -sitosterol

등의 sterol을 함유하고 있다.⁷⁾ 자몽종자추출물 (grapefruit seed extract)에 함유된 naringin 등의 flavonoid는 항균효과, 금속 킬레이트화 (chelation) 효과, 항산화 효과, 유리기 (free radical) 봉쇄 효과, 항돌연변이유발 효과, 항염증 효과 및 항아테롬형성 효과 (anti-atherogenic effect) 등 다양한 효과를 가지고 있는 것으로 알려져 있다.⁸⁾⁻¹⁷⁾ 구강질환과 관련된 바로는 자몽종자추출물이 치아 우식 원인균의 하나인 *Streptococcus mutans* (*S. mutans*)의 성장을 억제한다는 보고가 있으며¹⁸⁾ 자몽종자추출물이 함유된 구내 세치제와 분무액이 구취감소 효과와 치은염 완화 효과가 있다는 보고도 있다.^{19,20)}

본 연구에서는 이러한 자몽종자추출물의 효과에 착안하여 기존의 자일리톨 함유 껌에 자몽종자추출물을 첨가하여 자일리톨/자몽종자추출물 함유 껌의 치태 억제 효과와 항균효과를 자몽종자추출물을 함유하지 않은 일반 자일리톨 껌과 비교하여 다소의 지견을 얻어 보고하는 바이다.

II. 연구 재료 및 방법

1. 연구대상

연세대학교 치과대학 학생 및 연세대학교 치과대학병원에 내원한 환자 중 전신적으로 건강한 치은염 및 초기 치주염 환자를 무작위로 선택하였다. 실험 대상은 총 40명으로 20명씩 (대조군 및 실험군) 두 군으로 나누어 자몽종자추출물과 자일리톨이 함유된 껌을 씹은 환자들을 실험군으로, 자일리톨만 포함된 껌을 씹은 환자들을 대조군으로 분류하였다.

연구대상자들은 특이한 전신적 질환이 없고, 최근 12개월 내에 약물투여를 받고 있지 않으며 심한 부정교합이 없고 턱관절 장애가 없는 사람으로 하였다.

2. 연구방법

1) 실험재료

대조군은 자일리톨만 함유된 껌을 씹도록 하고, 실험군은 자몽종자추출물과 자일리톨이 함유된 껌을

씹도록 하였다. 두 군 모두 칫솔은 Gum® #311 (Buttler Co.)을 사용하고 치약은 안티-프라그(부광약품)를 사용하였다.

2) 치은염 평가방법

(1) 초진

초진시 치석 제거술 (Scaling) 및 구강위생교육 (Tooth brushing instruction: TBI)을 시행하였다. 실험 기간 동안 칫솔질은 하루 3회 롤법 (Rolling method)으로 시행하도록 하고, 양치액, 치실, 치간치술, 수압청정기 (water pick) 등 기타 구강 위생 도구의 사용은 하지 않도록 하였다.

(2) Baseline

치석 제거술 시행 1주일 후를 baseline으로 설정하고, 상악 우측 제1대구치, 상악 우측 제1소구치, 상악 좌측 중절치, 하악 좌측 제1대구치, 하악 좌측 제1소구치, 하악 우측 중절치를 선정하여 대상치아로 삼고 치은염 평가를 위한 임상지수를 측정하였다.

임상지수는 Lobene Gingival index, Modified O'Leary Plaque Control Record, Probing pocket depth, Clinical attachment level, Bleeding on probing 순으로 측정하였다.

측정한 임상지수는 다음과 같다.

i) Lobene Gingival index (modification of Loe & silness index): GI (치은지수)

다음 기준에 따라 해당 치아마다 협면과 설면 각각에 대해 0, 1, 2, 3, 4의 수치로 기록하였다.

0 = 염증 없음

1 = 경한 염증 ; 전체 변연 및 유두치은이 아닌 일 부분에 경미한 색조 변화가 있고 질감에는 거의 변화가 없는 경우

2 = 중증 염증 ; 위의 증상이 전체 변연 및 유두 치은에 해당하는 경우

3 = 심한 염증 ; 윤택, 발적, 부종 그리고/또는 변연 및 유두치은에 과증식이 있는 경우

4 = 심한 염증 ; 상당한 염증, 부종, 그리고/또는 변연 및 유두치은에 과증식, 자발적 출혈, 충혈 또는 궤양이 있는 경우

ii) Modified O' Leary Plaque Control Record: PI
(치태지수)

해당 치아의 6면에 대해서 disclosing solution을 이용하여 치은연상치태의 존재 여부를 평가하였다. 존재 시는 수치를 1로 하였고 그렇지 않은 경우는 0으로 하여 전체 치면에 대한 수치를 %로 계산하였다.

iii) Bleeding on Probing: BOP (탐침후 출혈)

위와 동일하게 치아의 6면에서 기록하고 탐침 후 10초 후에 출혈이 있는 경우는 1로 기록하였고 그렇지 않은 경우는 0으로 하여 전체 치면에 대하여 %로 계산하였다.

iv) Probing pocket depth: PD (치주낭 깊이)

Color-coded probe (CP-15UNC,Hu-Friedy)를 사용하여 해당치아의 6부위, 협설측으로 근심, 중앙, 원심에 걸쳐 측정하였다.

v) Clinical attachment level: CAL (부착수준)

백야-범랑 경계부, 보철물의 변연 등으로부터 치주낭의 기저부까지의 거리를 측정하였다.

(3) 실험방법

Baseline으로부터 4주간 하루 3회 식후에 10-15분 간 2개의 껌을 씹도록 하였다.

(4) 재내원

Baseline (scaling 1주 후)으로부터, 1주, 2주, 3주, 4주 후 내원시 baseline과 동일한 임상지수를 측정하였다 (Table 1).

3) 항균효과 평가방법

(1) 타액내 총세균수 측정

자몽종자추출물과 자일리톨이 함유된 껌을 씹기 시작하여 1주, 2주, 3주 및 4주 후 내원한 실험군의 비자극성타액을 멸균된 시험관에 모았다 (Table 1). 모은 타액 1 ml를 멸균된 인산완충액로 10배로 단계 희석하였으며 10^3 , 10^4 및 10^5 배로 희석된 타액 0.1 ml를 증균배지인 brain heart infusion (BHI) 한천배지에 도말하여 37°C 항온기에서 배양하였다. 48시간 배양 후 평판점시당 형성된 집락수를 세어 타액 ml당 총 세균수를 평가하였다.

(2) 타액내 *S. mutans* 수 측정

자몽종자추출물과 자일리톨이 함유된 껌을 씹기 시작하여 1주, 2주, 3주, 4주 후 내원한 실험군의 비자극성타액을 멸균된 시험관에 모았다 (Table 1). 채취한 타액을 위와 동일한 방법으로 10^1 및 10^2 로 희석하였다. 원액 및 희석한 타액 0.1 ml을 *S. mutans* 선택배지인 20% sucrose, 0.2 U/ml bacitracin (Sigma) 및 0.001% tellurite (Becton Dickinson)를 함유한 mitis-salivarius (Difco) 한천배지 (MSB배지)에 도말하여 혐기성조건에서 48시간 배양한 후 실온 호기성 조건에서 24시간 연장 배양하였다. 총 72시간 배양 후 평판점시당 형성된 *S. mutans* 집락수를 세어 타액 ml당 *S. mutans*의 수를 측정하였다.

MSB배지에 형성된 *S. mutans*의 집락은 16S rRNA 유전자를 중합효소반응법 (polymerase chain reac-

Table 1. Study design

	Baseline	1 week	2 week	3 week	4 week
GI	*	*	*	*	*
PI	*	*	*	*	*
BOP	*	*	*	*	*
PPD	*	*	*	*	*
CAL	*	*	*	*	*
총세균수		*	*	*	*
<i>S. mutans</i> 의 수		*	*	*	*

Baseline : scaling 1주 후

GI : Gingival index, PI : Plaque index, BOP : Bleeding on probing

PPD : Probing pocket depth, CAL : Clinical attachment level

tion, PCR)으로 증폭시킨 후 유전자 염기서열을 평가하여 확인하였다. MSB 배지에 형성된 세균 집락을 각각 100 μ l 인산완충액에 부유시킨 후 세균의 형태를 위상차 현미경으로 관찰하였다. 세균의 부유액을 원심 분리하여 얻은 균침전물에 50 μ l의 용균 완충액을 넣어 균을 용해시킨 후 같은 양의 증류수를 첨가하여 균 용해액을 얻었다. 세균의 16S rRNA 유전자를 얻기 위하여 모든 세균을 탐지할 수 있는 보편 primer (TpU1: 5'-AGA GTT TGA TCM TGG CTC AG-3' RTU3: 5'-GWA TTA CCG CGG CKG CTG-3')를 사용하여 PCR을 수행하였으며 dNTPs, Taq-polymerase 및 반응완충액은 Perkin-Elmer Cetus로부터 구입하여 사용하였다. 95°C에서 5분간 초기 변성화시킨 후 열회로 (thermal cycler, Perkin-Elmer Cetus model 480) 내에서 95°C에서 1분간 변성반응 (denaturation), 56°C에서 1분간 결합반응 (annealing), 72°C에서 연장반응 (extension) 과정을 30회 반복하여 PCR을 진행하였다. PCR 산물을 1% agarose gel에서 전기영동하여 확인한 후 PCR purification kit

(Qiagen)으로 정제하였고, 자동염기서열분석기를 이용해 세균의 16S rRNA 유전자 염기서열을 분석하였다. 이렇게 얻은 세균의 염기서열을 nucleotide database (NCBI)의 BLAST program을 이용하여 비교 분석하여 *S. mutans*의 집락을 확인하였다.

3. 통계분석

실험군과 대조군 사이의 임상지수 그리고 Baseline, 1주, 2주, 3주, 4주째의 임상지수 및 타액내 세균수는 Analysis of variance (ANOVA) 검정법으로 비교분석하였다 ($p < 0.05$).

III. 연구결과

1. 치은 지수

실험군에서는 baseline으로부터 1주 후부터 통계적으로 유의한 감소를 나타내기 시작하였으며, 대조

Table 2. Comparison of gingival index between control and experimental groups

	Number	Baseline	1 week	2 week	3 week	4 week
Control	20	0.758 \pm 0.379	0.592 \pm 0.296	0.563 \pm 0.281*	0.454 \pm 0.194*†	0.413 \pm 0.199*
Experimental	20	0.850 \pm 0.298	0.575 \pm 0.345*	0.533 \pm 0.332*	0.459 \pm 0.311*	0.408 \pm 0.224*

* : Statistically significant from baseline at $p < 0.05$

† : Statistically significant from 2 week at $p < 0.05$

Data are expressed as mean \pm SD

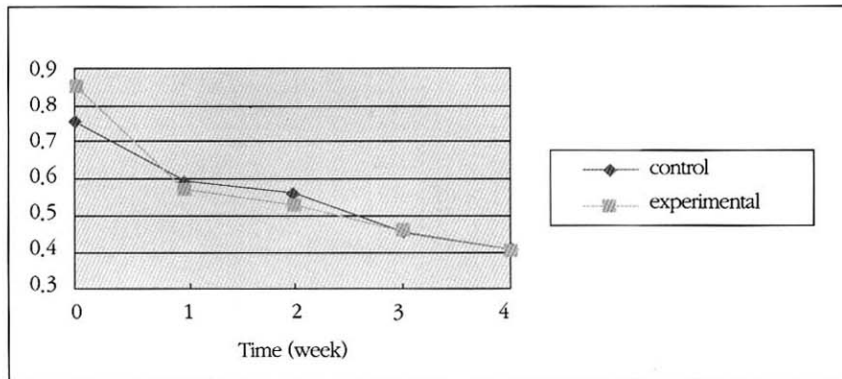


Figure 1. Comparison of gingival index between control and experimental groups

군에서는 2주 후부터 유의한 감소를 보였다. 대조군에서는 2주와 3주 사이에서도 유의한 차이를 보였다. 각 군 간의 비교에서는 baseline과 4주 사이 실험군에서는 치은지수가 약 0.442 감소하였고, 대조군에서는 0.345 감소하여 전체적으로 실험군에서 보다 더 큰 감소를 나타내었으나 통계적으로 유의한 차이는 없었다 (Table 2, Figure 1).

2. 치태 지수

실험군에서는 baseline으로부터 1주 후부터 통계적으로 유의한 감소를 나타내었고, 대조군에서는 2주 후부터 유의한 감소를 보였다. 실험군에서는 1주와 2주 사이, 2주와 3주 사이, 3주와 4주 사이에서도 유의한 차이를 보였고 대조군에서는 3주와 4주 사이에서 유의한 차이를 보였다. 각 군 간의 비교에서는

baseline과 1주 사이에 실험군이 대조군보다 통계적으로 유의하게 큰 감소가 이루어졌고, 그 이후의 감소 폭에는 두 군간에 유의한 차이가 없었다. 전체적으로 baseline과 4주 사이의 감소 폭이 실험군에서 대조군보다 유의하게 컸다 (Table 3, Figure 2).

3. 출혈 지수

대조군은 2주 후부터 통계학적으로 유의한 감소를 나타내기 시작하였고, 실험군은 4주 후에 유의한 감소를 나타내었다. 2주와 4주 사이에는 실험군과 대조군 모두 유의한 감소를 보였다. Baseline과 4주 사이에 대조군은 38.3%에서 22.5%로 감소하여 약 15.8%의 감소 폭을 보였으며 실험군은 37.7%에서 19.2%로 감소하여 약 18.5%가 감소하였으나 통계적으로 유의한 차이는 없었다 (Table 4, Figure 3).

Table 3. Comparison of plaque index between control and experimental groups

	Number	Baseline	1 week	2 week	3 week	4 week
Control	20	0.411±0.492	0.375±0.484	0.354±0.479*	0.313±0.463*	0.193±0.395*§
Experimental	20	0.497±0.500	0.375±0.484**	0.332±0.471**	0.286±0.452*†	0.210±0.407*§

* : Statistically significant from baseline at $p < 0.05$

+ : Statistically significant from 1 week at $p < 0.05$

† : Statistically significant from 2 week at $p < 0.05$

§ : Statistically significant from 3 week at $p < 0.05$

** : Statistically significant from control group at $p < 0.05$

Data are expressed as mean±SD

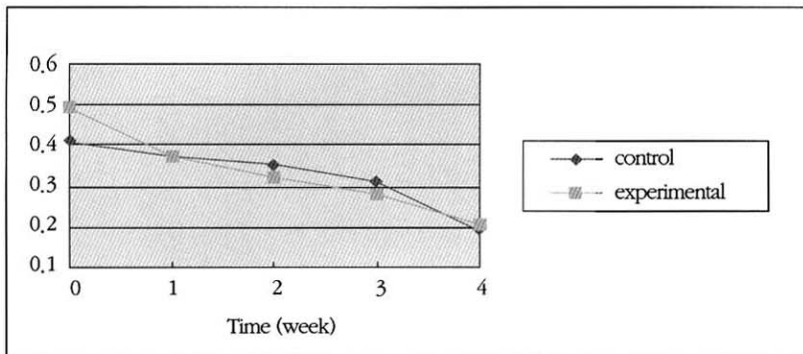


Figure 2. Comparison of plaque index between control and experimental groups

Table 4. Comparison of bleeding index between control and experimental groups

	Number	Baseline	2 week	4 week
Control	20	0,383±0,124	0,318±0,153*	0,225±0,126*†
Experimental	20	0,377±0,177	0,298±0,152	0,192±0,108*†

* : Statistically significant from baseline at $p < 0,05$

† : Statistically significant from 2 week at $p < 0,05$

Data are expressed as mean±SD

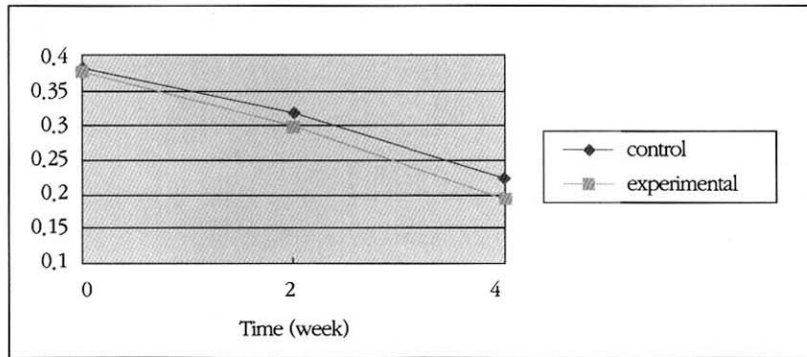


Figure 3. Comparison of bleeding index between control and experimental groups

Table 5. Comparison of probing depth between control and experimental groups

	Number	Baseline	2 week	4 week
Control	20	2,45±0,68mm	2,37±0,57mm*	2,19±0,57mm*†
Experimental	20	2,56±1,00mm	2,40±0,65mm*	2,23±0,64mm*†

* : Statistically significant from baseline at $p < 0,05$

† : Statistically significant from 2 week at $p < 0,05$

Data are expressed as mean±SD

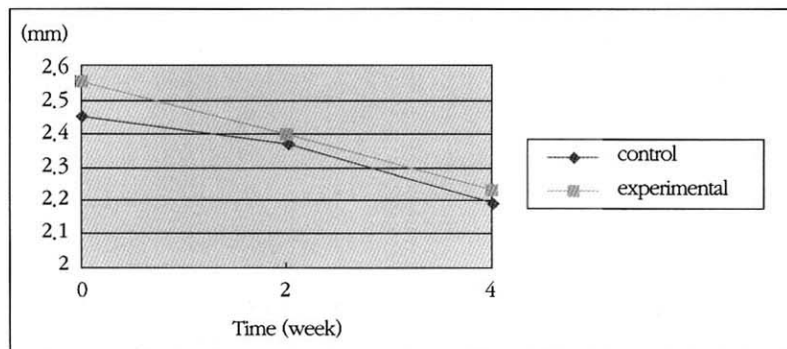


Figure 4. Comparison of probing depth between control and experimental groups

Table 6. Comparison of clinical attachment level between control and experimental groups

	Number	Baseline	2 week	4 week
Control	20	2.49±0.70mm	2.40±0.59mm*	2.22±0.62mm*†
Experimental	20	2.58±1.01mm	2.43±0.67mm*	2.26±0.65mm*†

* : Statistically significant from baseline at $p < 0.05$

† : Statistically significant from 2 week at $p < 0.05$

Data are expressed as mean ± SD

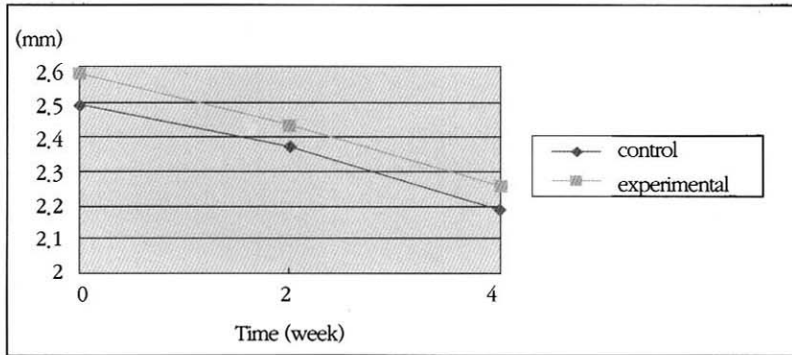


Figure 5. Comparison of clinical attachment level between control and experimental groups

4. 치주낭 깊이

Baseline에 비하여 2주, 4주에서 실험군과 대조군 모두 통계학적으로 유의한 감소를 나타내었고, 실험군에서는 약 0.33 mm, 대조군에서는 약 0.26 mm의 치주낭 깊이 감소가 있었으나 감소 폭에 있어 두 군간에 통계적으로 유의한 차이는 없었다 (Table 5, Figure 4).

5. 부착수준

초기검사에 비하여 2주, 4주에서 실험군과 대조군 모두 통계학적으로 유의한 감소를 나타내었고, 실험군에서는 약 0.32 mm, 대조군에서는 약 0.27 mm의 감소가 있었다. 감소 폭에 있어 통계적으로 유의한 차이는 없었다 (Table 6, Figure 5).

6. 타액내 총 세균수 및 *S. mutans* 수의 변화

1주를 기준으로 2주, 3주 및 4주 후 세균수의 변화

를 감소율 ($100 - (2\text{주}, 3\text{주 또는 } 4\text{주 후 세균수} \times 100 / 1\text{주 후 세균수})$)로 나타내어 자일리톨 및 자몽종자추출물 함유 껌의 항균효과를 분석하였다. 2주, 3주 및 4주 후 총 세균수의 감소율은 각각 $46 \pm 53\%$, $53 \pm 5\%$ 및 $69 \pm 33\%$ 로서 3주 후 타액내 총 세균수가 50% 이상 감소하였다 (Table 7, Figure 6).

총세균수와 동일한 방법으로 2주, 3주 및 4주 후 타액내 *S. mutans* 수의 변화를 감소율로 나타낸 결과 2주, 3주 및 4주 후 타액내 *S. mutans*의 감소율은 각각 $52 \pm 69\%$, $88 \pm 30\%$ 및 $89 \pm 17\%$ 로서 3주 후 타액내 *S. mutans*의 수가 80% 이상 감소하였다 (Table 7, Figure 7).

IV. 총괄 및 고찰

자일리톨과 자몽종자추출물이 함유된 껌의 항균 효과 및 치은염 예방 효과를 평가한 결과, 치은지수, 치태지수, 출혈지수, 치주낭 깊이, 부착수준 등 실험에서 평가한 모든 임상지수가 4주 후 대조군 (자일리

Table 7. Effect of gum containing xylitol and grapefruit seed extract on number of total bacteria and *Streptococcus mutans* in saliva

	% of Reduction		
	2 week	3 week	4 week
Total Bacteria	46 ± 53	53 ± 5*	69 ± 33*
<i>S. mutans</i>	52 ± 69	88 ± 30*	89 ± 17*

Data are % of reduction ($100 - (\text{number of bacteria at 2 week, 3 week or 4 week} \times 100 / \text{number of bacteria at 1 week})$) and are expressed as mean ± SD.

* : Statistically significant from 1 week at $p < 0.05$

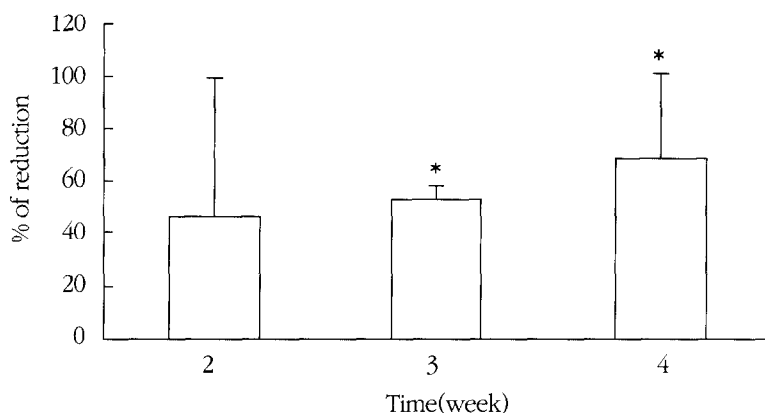


Figure 6. Effect of gum containing xylitol and grapefruit seed extract on number of bacteria in saliva.

* : Statistically significant different from 1 week at $p < 0.05$

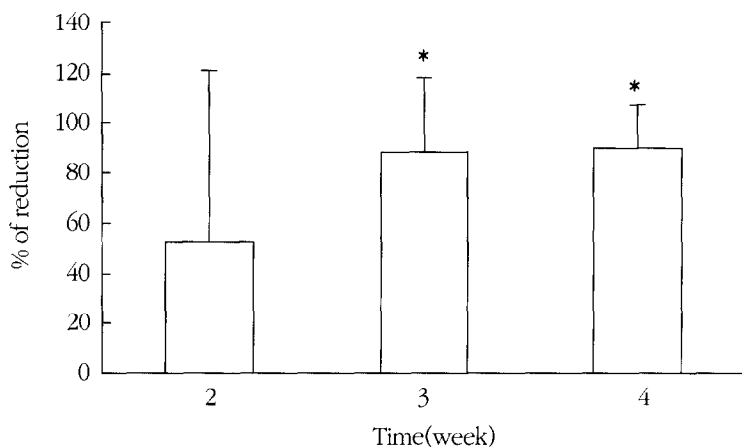


Figure 7. Effect of gum containing xylitol and grapefruit seed extract on number of *Streptococcus mutans* in saliva.

* : Statistically significantly different from 1 week at $p < 0.05$

톨만 함유된 껌을 씹은 군)과 실험군(자일리톨과 자몽종자추출물이 함유된 껌을 씹은 군) 모두에서 초기검사에 비해 유의한 감소를 보여 4주간의 실험 기간을 통하여 치은 건강이 증진된 것으로 나타났다. 실험군과 대조군 사이의 임상지수 개선 효과를 비교했을 때는 치태지수에서만 유의한 차이를 보여 껌에 자몽종자추출물을 첨가함으로써 부가적인 치태 감소 효과를 얻을 수 있는 것으로 나타났다. 치태의 대부분을 구성하고 있는 것이 세균이라는 점을 고려하면 이러한 결과는 자몽종자추출물의 항균효과가 관련 있는 것으로 보인다. 이는 실험군의 타액내 총세균수의 감소로도 확인할 수 있었다.

자몽종자추출물의 항균효과는 여러 연구자에 의해 연구된 바 있는데 Reagor 등은 한천배지 실험에서 자몽종자추출물이 67종의 광범위한 그람 양성 및 음성 세균에 대해 항균 효과를 나타내었다고 보고하였다.⁸⁾ 자몽종자추출물의 항균 효과는 그람 양성 세균에 대한 효과가 그람 음성 세균에 비해 더 큰 것으로 알려져 있으며 몇몇 진균에 대해서는 항진균효과도 가지고 있는 것으로 알려져 있다.⁷⁾ 또 이러한 항균효과는 독성을 나타내지 않을 정도의 저농도에서도 나타난다고 Hegggers 등은 보고하였다.²¹⁾ 자몽종자추출물 중에서 이러한 항균효과에 주된 역할을 하는 성분으로 연구되고 있는 성분은 flavonoid 성분이다. Flavonoid는 저분자량의 천연 benzo- γ -pyrone 유도체로서 항균 작용을 비롯하여 다양한 효과를 가진 것으로 알려져 있다.^{9,11,12,13)} 자몽종자추출물에 함유된 flavonoid에는 naringenin, naringin, quercetrin, kaempferol, hesperetin, apigenin 등이 있으며⁷⁾ 이중 주된 성분인 naringin, naringenin이 특히 관심의 대상이 되고 있다. Rauha 등은 flavonoid의 항균효과를 9종의 세균과 3종의 진균에 대해 실험한 결과 naringenin은 강력한 항균효과를 나타내어 *Aspergillus niger*와 *Candida albicans*를 제외한 모든 대상 미생물에 대해 효과를 나타낸 반면, naringenin의 glycosidic form인 naringin은 거의 효과가 없다고 보고하였다.⁹⁾ 본실험에서 사용된 껌에 함유된 자몽종자추출물의 성분 중 어떤 성분이 항균효과에서 주된 역할을 하는지에 관해서는 보다 많은 연구가 필요한

것으로 보인다. 자몽종자추출물이 항균효과를 나타내는 정확한 기전은 알려져 있지 않으나 Hegggers 등은 자몽종자추출물로 세균을 처리하였을 때 세균의 세포막이 와해되어 세포사가 일어나는 것을 전자 현미경을 통해 관찰하였다.²¹⁾ 또한 효소활성을 저해하고 DNA/RNA에서 비롯되는 세포증식 기작을 억제하여 미생물에 대한 살균효과를 나타낸다고도 알려져 있다.¹⁰⁾

유 등은 자몽종자추출물이 우유식 유발균 중 하나인 *S. mutans*의 성장을 억제한다고 보고한 바 있다.¹⁸⁾ 본 실험에서 실험군의 타액내 *S. mutans*의 수를 측정된 결과 실험 시작 3주후부터 *S. mutans*의 수가 80% 이상 감소하였다. 그러나 이런 감소효과가 전적으로 자몽종자추출물의 효과라고 보기는 어려운데 껌에 함유된 자일리톨도 *S. mutans* 균에 대한 억제효과를 가지고 있는 것으로 알려져 있기 때문이다. 자일리톨은 비우식성일 뿐 아니라 항우식효과를 지닌 것으로 알려져 있는데, 이는 주된 우식 유발균인 *S. mutans* 균에 대한 억제효과와 관련이 깊다. Loesche 등은 비자극성 타액 1ml당 10^4 개 이상의 *S. mutans*를 가지는 60명의 어린이를 대상으로 4주간 하루 5번 자일리톨 함유 껌을 씹도록 한 결과, 타액내 *S. mutans*의 수가 90% 감소하였다고 보고한 바 있다.³⁾ 그 외 여러 연구에서도 자일리톨이 함유된 껌 씹기에 의해 치태 및 타액내의 *S. mutans* 균의 수가 감소함을 보고하였다.²²⁻²⁵⁾ 실험실 연구에 의하면 자일리톨에 의한 *S. mutans* 성장 억제 효과는 1.56%의 저농도에서도 나타났다.²⁶⁾ 자일리톨은 *S. mutans*의 세포내부로 들어가 인산화되어 xylitol-5-phosphate라는 대사산물을 형성, 에너지를 고갈시키고 세균의 해당 작용을 방해함으로써 세균을 억제하는 것으로 알려져 있으며^{26,27)} *S. mutans* 내의 단백질 합성을 방해한다고도 보고된 바 있다.²⁸⁾

따라서 본 실험에서 나타난 타액내 *S. mutans* 감소 효과는 자일리톨과 자몽종자추출물이 함께 작용한 것으로 생각되며 어떤 성분이 더 큰 역할을 하는지와 두 성분이 함께 작용하였을 때 어떤 효과를 나타내는지에 대해서는 더 많은 연구가 필요하다. *S. mutans* 이외의 균에 대한 자일리톨의 효과는 알려져 있는 것

이 거의 없으므로 타액내 총세균수의 감소는 자몽종 자추출물의 항균효과를 보여주는 결과로 사료되나, 자몽종자추출물 함유 껌 자체의 임상적 항균효과에 대해서는 보다 많은 연구가 필요하다고 생각된다.

V. 결론

자몽종자추출물의 치태조절과 초기 치은염 조절 및 항균효과를 알아보기 위해, 자몽종자추출물과 자일리톨을 함유한 껌 (실험군)과 자일리톨만 함유한 껌 (대조군)을 비교하는 임상 실험을 시행하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 실험군 껌과 대조군 껌을 4주간 사용한 결과 치태 지수 평가에서 대조군과 실험군 모두 통계학적으로 유의한 감소가 나타났으며 실험군에서의 감소폭이 대조군에 비해 유의하게 더 컸다 ($p < 0.05$).
2. 치은지수, 출혈지수의 평가에서는 대조군과 실험군 모두 통계학적으로 유의한 감소가 나타났으나 두 군 간에는 유의한 차이가 없었다 ($p < 0.05$).
3. 치주낭 깊이, 부착 수준 평가에서도 대조군과 실험군 모두 통계학적으로 유의한 감소가 나타났으나 두 군 간에는 유의한 차이가 없었다 ($p < 0.05$).
4. 실험군에서 타액내 총세균수 및 *S. mutans*의 수는 3주 후 각각 50% 및 80% 이상 감소하였다.

이상의 결과로 보아, 본 연구에서 사용한 자일리톨/자몽종자추출물 함유 껌은 치태조절 효과와 항균효과를 가져 초기 치은염 예방 및 개선에 유효한 것으로 사료된다. 또한 치아우식의 주원인균인 *S. mutans* 수를 감소시켜 우식 예방효과도 있을 것으로 사료된다.

VI. 참고문헌

1. Hanham A, Addy M. The effect of chewing

sugar-free gum on plaque regrowth at smooth and occlusal surfaces. *J Clin Periodontol* 2001;28:255-257.

2. Isokangas P, Alanen P, Tiesko J, Mainen KK. Xylitol chewing gum in caries prevention : a field study in children. *JADA* 1988;117:315-320.
3. Loesche WJ, Earnest R, Grossman NS, Corpron R. The effect of chewing xylitol gum on the plaque and saliva levels of *Streptococcus mutans*. *JADA* 1984;108:587-592.
4. Schiele AA, Fejerskov O, Danielsen B. The effect of xylitol-containing chewing gums on dental plaque and acidogenic potential. *J Dent Res* 1998;77:1547-1552.
5. Smith AJ, Moran J, Dangler LV, Leight RS, Addy M. The efficacy of an anti-gingivitis chewing gum. *J Clin Periodontol* 1996;23:19-23.
6. Simons D, Brailsford S, Kidd EAM, Beighton D. The effect of chlorhexidine acetate/xylitol chewing gum on the plaque and gingival indices of elderly occupants in residential homes: A 1-year clinical trial. *J Clin Periodontol* 2001;28:1010-1015.
7. Tirillini B. Grapefruit: the last decade acquisitions. *Fitoterapia* 2000;71:S29-S37.
8. Reageor L, Gusman J, McCoy L, Carino E, Heggors JP. The effectiveness of processed grapefruit-seed extract as an antibacterial agent: I. An *In Vitro* Agar Assay. *J Altern Complement Med* 2002;8:325-332.
9. Rauha JP, Remes S, Heinonen M, Hopia A, Kähkönen M, Kujala T, Pihlaja K, Vuorela H, Vuorela P. Antimicrobial effects of Finnish plant extracts containing flavonoids and other phenolic compounds. *Int J Food Microbiology* 2000;56:3-12.
10. 최원균, 노용철, 황성연. 자몽종자추출물과 폴리리신혼합물의 식품부패균에 대한 항균효과. *한국식생활문화학회지* 2000;5(1):9-15.
11. Chen Y, Zheng R, Jia Z, Ju Y. Flavonoids as

- superoxide scavengers and antioxidants. *Free Radical Biology & Medicine* 1990;9:19-21.
12. Jagetia GC, Reddy TK. The grapefruit flavanone naringin protects against the radiation-induced genomic instability in the mice bone marrow : a micronucleus study. *Mutation Research* 2002;519:37-48.
 13. Read MA. Flavonoids: Naturally occurring anti-inflammatory agents. *American J of Pathology* 1995;147:235-237.
 14. Borrelli F, Izzo AA. The plant kingdom as a source of anti-ulcer remedies. *Phytotherapy Research* 2000;14:581-591.
 15. Lee CH, Jeong TS, Choi YK, Hyun BH, Oh GT, Kim EH, Kim JR, Bok SH. Anti-atherogenic effect of citrus flavonoids, naringin and naringenin, associated with hepatic ACAT and Aortic VCAM-1 and MCP-1 in high cholesterol-fed rabbits. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 2001;284:681-688.
 16. Borradaile NM, de Dreu LE, Barrett PH, Huff MW. Inhibition of hepatocyte apoB secretion by naringenin: enhanced rapid intracellular degradation independent of reduced microsomal cholesteryl esters. *J Lipid Res* 2002;43:1544-1554.
 17. Borradaile NM, de Dreu LE, Barrett PH, Behrsin CD, Huff MW. Hepatocyte apoB-containing lipoprotein secretion is decreased by the grapefruit flavonoid, naringenin, via inhibition of MTP-mediated microsomal triglyceride accumulation. *Biochemistry* 2003;42:1283-1291.
 18. 유윤정, 박용석, 곽월아, 조장기, 장희순, 권호근, 이승일. 자몽 씨, 결명자 및 당귀에 의한 *Streptococcus mutans*의 증식억제 효과. *대한구강보건학회지* 1995;19(3):357-372.
 19. 정세환, 배광학, 문혁수, 백대일, 김종배, 박덕영. 자몽종자추출물과 차추출물 및 UDCA를 배합한 구내분무액의 *S. mutans*와 구취 감소효과 및 치은염완화효과에 관한 연구. *대한구강보건학회지* 1998;22(1):37-46.
 20. 배광학, 노승학, 문혁수. 트리클로잔과 자몽종자추출물(GFSE)과 Eucalyptus oil 및 플라보노이드를 배합한 세치제의 구취예방효과에 관한 연구. *대한구강보건학회지* 2002;26(2):251-257.
 21. Hegggers JP, Cottingham J, Gusman J, Reagor L, McCoy L, Carino E, Cox R, Zhao JG. The effectiveness of processed grapefruit-seed extract as an antibacterial agent: II. Mechanism of action and *In Vitro* toxicity. *J Altern Complement Med* 2002;8:333-340.
 22. Söderling E, Isokangas P, Mustakallio S, Mäkinen KK. Long-term xylitol consumption and Mutans Streptococci in plaque and saliva. *Caries Res* 1991;25:153-157.
 23. Simons D, Kidd EAM, Beighton D, Jones B. The effect of chlorhexidine/xylitol chewing-gum on cariogenic salivary microflora: a clinical trial in elderly patients. *Caries Res* 1997;31:91-96.
 24. Söderling E, Mäkinen KK, Chen CY, Pape HR Jr., Loesche W, Mäkinen PL. Effect of sorbitol, xylitol, and xylitol/sorbitol chewing gums on dental plaque. *Caries Res* 1989;23:378-384.
 25. Hildbrandt GH, Sparks BS. Maintaining Mutans Streptococci suppression with xylitol chewing gum. *JADA* 2000;131:909-916.
 26. Sahni PS, Gillespie MJ, Botto RW, Otsuka AS. In vitro testing of xylitol as an anticariogenic agent. *General Dentistry* 2002;50(4):340-343.
 27. Trahan L, Bareil M, Gauthier L, Vadeboncoeur C. Transport and phosphorylation of xylitol by a fructose phosphotransferase system in *Streptococcus mutans*. *Caries Res* 1985;15:53-63.
 28. Hrimech M, Mayrand D, Grenier D, Trahan L. Xylitol disturbs protein synthesis, including the expression of HSP-70 and HSP-60, in *Streptococcus mutans*. *Oral Microbiol Immunol* 2000;15:249-257.

Antimicrobial and anti-gingivitis effect of chewing gum containing grapefruit seed extract and xylitol

Mi-Sung Jin¹, Yun-Jung Yoo², Bong-Kyu Choi³, Hee-Young Lee², Mi-Jung Kim²,
Hoe-Jin Roh⁴, Jong-Sub Park⁴, Kyoo-Sung Cho¹, Chong-Kwan Kim¹, Seong-Ho Choi¹

¹Department of Periodontology, College of Dentistry, Yonsei University,
Research Institute for Periodontal Regeneration, Brain Korea 21 project for Medical Science

²Department of Oral Biology and Oral Science Research Center, College of Dentistry, Yonsei University,

³Oromaxillofacial Infection and Immunity, College of Dentistry, Seoul National University

⁴Tongyang Confectionery Corp. R&D Center

Grapefruit seed extract has been reported to have antimicrobial effect. The purpose of this study was to evaluate the antimicrobial and anti-gingivitis effect of chewing gum containing grapefruit seed extract and xylitol.

40 healthy subjects with gingivitis or early periodontitis were divided into two groups. Subjects in the experimental group chewed gum containing grapefruit seed extract and xylitol while subjects in the control group chewed gum containing only xylitol.

All subjects received scaling and tooth brushing instruction. 1 week after scaling was set as baseline. Gingival index and plaque index were scored at baseline, 1 week, 2 week, 3 week and 4 week. Bleeding index, probing pocket depth and clinical attachment level were scored at baseline, 2 week and 4 week. The number of total bacteria and *Streptococcus mutans* in unstimulated saliva of experimental group were counted at 1 week, 2 week, 3 week and 4 week.

Gingival indices of experimental group and control group at baseline, 1 week, 2 week, 3 week and 4 week were 0.850 ± 0.298 , 0.575 ± 0.345 , 0.533 ± 0.332 , 0.459 ± 0.311 , 0.408 ± 0.224 and 0.758 ± 0.379 , 0.592 ± 0.296 , 0.563 ± 0.281 , 0.454 ± 0.194 , 0.413 ± 0.199 (mean \pm SD), respectively. Plaque indices of experimental group and control group at baseline, 1 week, 2 week, 3 week and 4 week were 0.497 ± 0.500 , 0.375 ± 0.484 , 0.332 ± 0.471 , 0.286 ± 0.452 , 0.210 ± 0.407 and 0.411 ± 0.492 , 0.375 ± 0.484 , 0.354 ± 0.479 , 0.313 ± 0.463 , 0.193 ± 0.395 , respectively. Bleeding indices of experimental group and control group at baseline, 2 week and 4 week were 0.377 ± 0.177 , 0.298 ± 0.152 , 0.192 ± 0.108 and 0.383 ± 0.124 , 0.318 ± 0.153 , 0.225 ± 0.126 , respectively. Probing pocket depth of experimental group and control group at baseline, 2 week and 4 week were 2.56 ± 1.00 , 2.40 ± 0.65 , 2.23 ± 0.64 and 2.45 ± 0.68 , 2.37 ± 0.57 , 2.19 ± 0.57 , respectively. Clinical attachment level of experimental group and control group at baseline, 2 week and 4 week were 2.58 ± 1.01 , 2.43 ± 0.67 , 2.26 ± 0.65 and 2.49 ± 0.70 , 2.40 ± 0.59 , 2.22 ± 0.62 , respectively. The % of reduction of total bacteria in saliva of experimental group at 2 week, 3 week and 4 week were $46 \pm 53\%$, $53 \pm 5\%$ and $69 \pm 33\%$. The % of reduction of *Streptococcus mutans* count in saliva of experimental group at 2 week, 3 week and 4 week were $52 \pm$

69%, $88 \pm 30\%$ and $89 \pm 17\%$.

From these findings, it can be concluded that regular use of grapefruit seed extract /xylitol chewing gum may be effective to control and prevent gingivitis and may have caries-preventive effect.

Key words : chewing gum, grapefruit seed extract, xylitol, antimicrobial effect, anti-gingivitis effect