Journal of The Korea Convergence Society
Vol. 13. No. 5, pp. 97-102, 2022
e-ISSN 2713-6353
DOI : https://doi.org/10.15207/JKCS.2022.13.05.097

천연추출물이 구강미생물에 미치는 항균 효과

황혜정[1], 김민영[2], 강경희[3*]
[1]건양사이버대학교 보건의료복지학과 교수, [2]호원대학교 치위생학과 교수, [3]건양대학교 치위생학과 교수

Antibacterial effect of natural extracts on oral microorganisms

Hye-Jeong Hwang[1], Min-Young Kim[2], Kyung-hee Kang[3*]
[1]Professor, Dept. of Health & Welfare Management, Konyang Cyber University
[2]Professor, Dept. of Dental Hygiene, Howon University
[3]Professor, Dept. of Dental Hygiene, Konyang University

요 약 본 연구에서는 누에 추출물과 여주 추출물이 *S. mutans*와 *F. nucleatum*에 미치는 항균효과를 알아보고자 하였다. BHI 액체배지에 *S. mutans* 또는 *F. nucleatum*과 0%, 2%, 4%, 8% 농도의 누에가루 또는 여주가루 추출물을 첨가하여 배양한 뒤 광학밀도 600nm에서 시료를 측정하였다, 그 결과 *S. mutans*의 흡광도는 누에 추출물에서는 8%에서만 유의적으로 흡광도의 수치가 감소하였고 여주 추출물에서는 모든 농도에서 유의적으로 흡광도의 수치가 감소하였다. *F. nucleatum*의 흡광도는 누에 추출물과 여주 추출물에 모두 농도 의존적으로 유의적으로 감소하였다. 이는 누에 추출물과 여주 추출물이 구강질병의 예방 및 치료들 위한 소재로 사용 할 수 있는 가능성을 시사한다.

주제어 : 누에, 여주, *Streptococcus mutans*, *Fusobacterium nucleatum,* 항균

Abstract In this study, the antibacterial effect of silkworm extract and *Momordica charantia* extract on *S. mutans* and *F. nucleatum* was investigated. *S. mutans* or *F. nucleatum* and 0%, 2%, 4%, 8% concentration of silkworm powder or *Momordica charantia* powder extract were added to the BHI liquid medium and cultured, and the sample was measured at an optical density of 600nm. As a result, *S. mutans*, the absorbance value was significantly decreased only in 8% of the silkworm extract, and the absorbance value was significantly decreased in all concentrations in the *Momordica charantia* extract. The absorbance of *F. nucleatum* was significantly decreased in a concentration-dependent manner in both the silkworm extract and the *Momordica charantia* extract. This suggests the possibility that silkworm extract and *Momordica charantia* extract can be used as materials for the prevention and treatment of oral diseases.

Key Words : *Bombyx mori L, Momordica charantia L., Streptococcus mutans, Fusobacterium nucleatum,* Antibacterial

*This work was supported by the National Research Foundation of Korea (NRF) grant funded by the Korea government (Ministry of Education) (NRF-2017R1D1A1B03035544).
*Corresponding Author : Kyung-hee Kang(dhkhkang@konyang.ac.kr)
Received March 31, 2022 Revised May 16, 2022
Accepted May 20, 2022 Published May 28, 2022

1. 서론

구강 미생물에 의한 감염성 질환인 치아우식증과 치주질환은 가장 대표적인 구강질환으로 사람들의 삶의 질을 크게 저하시키며, 건강과 경제적 부담을 야기시킨다[1].

*Streptococcus mutans(S. mutans)*는 그람양성 구균으로 치아우식증의 주요 원인균으로 알려져 있다. *S. mutans*는 구강내 상주균으로 치아 표면에 부착, 증식하여 젖산을 생성하고 치아의 법랑질을 탈회시켜 치아우식증을 유발한다. 또한, 점액성분의 물에 녹지 않는 다당류를 합성하여 치아의 표면에 다른 세균과 공동으로 치면세균막을 형성한다[2].

치주질환은 치은연상과 치은연하에 인접한 치아 표면에 축적된 치면세균막에 서식하는 세균의 활동에 의해 발생한다. 치면세균막에 서식하는 세균의 주요 내독소인 lipolysaccharide(LPS)는 치주조직에서 염증반응을 유발하고, 이 염증반응에 의해 치주조직에서는 면역세포들에 의한 면역반응이 일어난다. 염증매개인자들과 기질파괴효소들이 이러한 염증-면역반응 과정에서 다양하게 발현되어 치은조직 내부의 세포외 기질의 파괴가 나타나고 심화되면 치은염, 치주염과 같은 질환이 발생하게 된다[3-5]. 치주염의 원인균으로는 *Porphyromonas gingivalis, Fusopbacterium nucleatum, Actinobacillus actinomycetemcomitans, Treponema denticola Prevotella intermedia* 등이 알려져 있으며, *Fusobacterium nucleatum(F. nucleatum)*은 조건적 혐기성세균으로 다른 구강 세균과 공동응집을 형성하면서 치면 세균막 형성의 중요한 매개자로 보고되어 있다. *F. nucleatum*은 초기와 후기 사이의 colony형성 집합체를 형성하고 혐기성 미생물의 치면세균막 발생에 필요한 조건들을 만들어주며, 중증의 치주질환의 원인이 되는 병원성 세균의 집합체 형성에 중요한 중재자 역할을 한다[6].

치아우식증과 치주질환은 원인균을 제거하는 것이 예방과 치료에 있어서 가장 효과적인 방법으로 우선적으로 고려해 볼 수 있는 것이 항생제이다. 그러나 항생제는 병원성 미생물에게 내성을 유발시킬 수 있고 이러한 항생제의 단점을 보안하기 위해 민간이나 전통 한의학에서 약재로 사용되어온 천연물을 이용하여 구강질환을 예방하고자 하는 연구들이 최근에는 활발히 진행되고 있다[7,8].

누에(*Bombyx mori L.*)는 나비목 누에나방과(Lepidoptera, Bombycidae)에 속하는 완전변태류 곤충으로, 한국, 중국, 일본 등의 아시아 국가에서 수백년 동안 비단생산에 이용되어왔으며, 예로부터 영양실조, 결핵, 중풍, 당뇨 등에 민간에서 약용으로 이용되어 왔다. 67% 이상의 단백질을 함유한 고단백 식품으로 혈당강하용 건강기능식품 소재로 널리 쓰이고 있으며, 대체적으로 5령 3일 (부화 후 19일) 누에를 열수 또는 수증기로 익히고 난 후 분말로 제조하여 사용한다. 대표적인 약리성분은 serine, tyrosine, alanin, mracin, aspartic acid 등으로 항산화, 항혈전, 항균, 항염증, 간 보호작용 등이 보고되고 있다[9,10].

여주(*Momordica charantia L.*)는 아시아, 아프리카 지역의 열대에서 서식하는 박과식물로, 우리나라에서는 여주 혹은 여자라고 불리며[11], 최근에는 당뇨 치료에 효과가 있다고 알려져 소비 섭취가 증대되고 있다[12]. 주요 활성 성분은 flavan-3-ol 유도체와 phenolic acid이며 여러 가지 생리활성물질들과 항산화 성분을 함유하고 있어 항바이러스, 항염증, 항당뇨, 항산화, 항암 등의 다양한 작용이 보고되었다[13,14].

이처럼 누에와 여주는 다양한 효능을 가진 생리활성물질들을 함유하는 유용자원으로 민간에서 치료제로 사용되어져 왔으며 건강식품 등으로 지금까지도 사용되고 있다. 이에 본 연구에서는 누에 추출물(silkworm extract: SWE)과 여주 추출물(*Momordica charantia* extract: MCE)이 *S. mutans*와 *F. nucleatum*에 미치는 항균효과을 알아보고 구강질병 예방을 위한 항균 천연물질로의 가능성을 알아보고자 하였다.

2. 연구방법

2.1 추출물 제조

국내산 100% 누에가루와 여주가루을 구입하여 60g의 누에가루와 60g의 여주가루를 각각 600 mL의 ethanol과 혼합하여 상온에서 24시간 보관 후, 1차로 여과하여 침전물을 제외하였다. 2차로 액체성분만을 vacuum 여과기를 이용하여 여과하고 여과된 추출물은 감압농축기를 이용하여 농축하였다. 농축된 추출물은 동결건조 후 보관하여 연구에 사용하였다.

2.2 균주 배양

S. mutans KCTC3065는 한국생물자원센터로에서 구매해서 Brain Heart Infusion(BHI, Difco, USA)

액체배지를 이용하여 37℃ 배양기에서 배양했다. *F. nucleatum* ATCC25586는 American Type Culture Collection (Manassas, VA, USA)에서 구매해서 혐기성 조건하에 37℃ 배양기에서 BHI 액체배지로 배양했다.

2.3 흡광도 측정

누에 추출물과 여주 추출물을 0%, 2%, 4%, 8%의 농도로 실험군의 BHI 액체배지에 각각 첨가하였고 대조군에는 추출물을 첨가하지 않았다. 각각의 배지에 2회 계대 배양시킨 *S. mutans*와 *F. nucleatum* 균주 (1×10^7 bactera)를 접종하여 배양한 후 플레이트 리더 (BioTek Instruments, Inc., Winooski, VT, USA)를 이용해서 광학밀도(optical density, OD) 600으로 흡광도 값을 측정하였다.

3. 연구결과

3.1 추출물 농도에 따른 *S. mutans* 흡광도

BHI 액체배지에 *S. mutans*와 0%, 2%, 4%, 8% 농도의 누에 추출물을 첨가하여 12시간 동안 배양한 뒤 광학밀도 600 nm에서 시료를 측정하였다. 누에 추출물 0% 농도의 흡광도는 0.77이었고, 2%일 때 0.70, 4%일 때 0.68, 8%일 때 0.61로 추출물을 함께 처리한 그룹에서 8%에서만 유의적으로 흡광도의 수치가 감소하였다(Fig. 1). BHI 액체배지에 *S. mutans*와 0%, 2%, 4%, 8% 농도의 여주 추출물을 첨가하여 12시간 동안 배양한 뒤 광학밀도 600 nm에서 시료를 측정하였다. 여주 추출물 0% 농도의 흡광도는 0.76이었고, 2%일 때 0.52, 4%일 때 0.20, 8%일 때 0.07로 농도 의존적으로 흡광도의 수치가 유의적으로 감소하였다(Fig. 2).

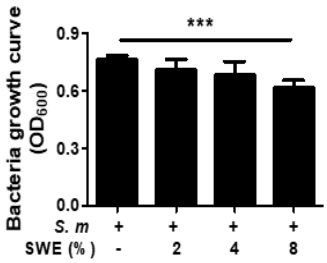

Fig. 1. *S. mutans* absorbance according to the concentration of silkworm extract(SWE)

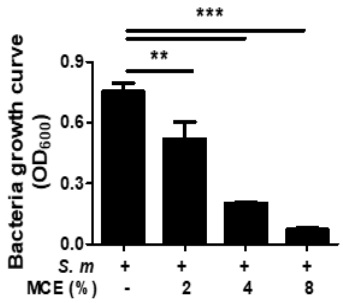

Fig. 2. *S. mutans* absorbance according to the concentration of Momordica charantia extract(MCE)

3.2 추출물 농도에 따른 *F. nucleatum* 흡광도

BHI 액체배지에 *F. nucleatum*와 0%, 2%, 4%, 8% 농도의 누에 추출물을 첨가하여 24시간 동안 배양한 후 광학밀도 600 nm에서 시료를 측정하였다. 누에 추출물 0% 농도의 흡광도는 1.25이었고, 농도가 2%일 때 0.95, 4%일 때 0.72, 8%일 때 0.49로 농도 의존적으로 흡광도의 수치가 유의적으로 감소하였다(Fig. 3).

BHI 액체배지에 *F. nucleatum*와 0%, 2%, 4%, 8% 농도의 여주 추출물을 첨가하여 24시간 동안 배양한 후 광학밀도 600 nm에서 시료를 측정하였다. 여주 추출물 0% 농도의 흡광도는 1.25이었고, 농도가 2%일 때 0.72, 4%일 때 0.44, 8%일 때 0.00으로 농도 의존적으로 흡광도의 수치가 유의적으로 감소하였다(Fig. 4).

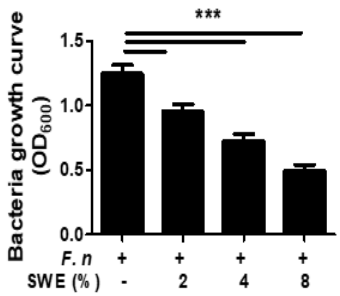

Fig. 3. *F. nucleatum* absorbance according to the concentration of silkworm extract(SWE)

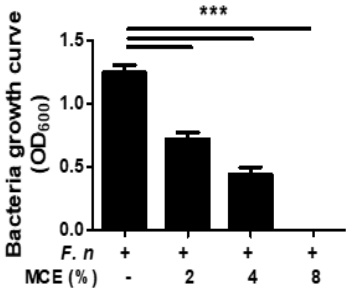

Fig. 4. *F. nucleatum* absorbance according to the concentration of Momordica charantia extract(MCE)

4. 고찰 및 결론

현대인들은 지속적인 경제성장과 소득증대에 따라 개인의 건강 및 구강건강에 대한 관심과 요구가 높아져 건강 지향적인 생활에 대해 보다 많은 관심을 갖게 되었다[15].

양대 구강병으로 알려진 치아우식증과 치주질환은 병원미생물에 의한 감염성 구강질환으로 *S. mutans*는 는 당 대사를 통하여 산을 생성하여 치아우식에 관여하며, *F. nucleatum*는 병원성 세균의 집합체 형성에 중요한 중재자 역할을 하며 치주질환에 관여한다[16,17].

본 연구에서는 누에 추출물과 여주 추출물이 *S. mutans*와 *F. nucleatum*에 미치는 항균효과을 알아보고자 하였다.

*S. mutans*와 0%, 2%, 4%, 8% 농도의 추출물을 첨가하여 배양한 뒤 광학밀도 600nm에서 시료를 측정한 결과, 누에 추출물은 8%에서만 유의적으로 흡광도의 수치가 감소하였으나 여주 추출물은 모든 농도에서 유의적으로 흡광도의 수치가 감소하였다. *F. nucleatum*와 0%, 2%, 4%, 8% 농도의 추출물을 첨가하여 배양한 뒤 광학밀도 600 nm에서 시료를 측정한 결과, 누에 추출물과 여주 추출물에 모두 농도 의존적으로 유의하게 흡광도의 수치가 감소하였다. *F. nucleatum*에 항균효과를 나타낸 누에 추출물은 치주질환 예방 및 치료를 위한 소재로 활용할 수 있는 가능성을 시사하며, *S. mutans*와 *F. nucleatum*에 모두 항균효과를 나타낸 여주 추출물은 치아우식과 치주질환의 예방 및 치료를 위한 소재로 사용 할 수 있는 가능성을 시사한다.

중요한 생리적 기능물질들을 함유하고 있어 영양적 가치와 경제적 가치를 가지고 있는 유용자원인 누에와 여주를 이용한 다양한 연구들이 활발하게 이루어져 왔다. 누에는 항종양 효과, monoamine oxidase-B의 억제 효과, 기관지의 점액 분비 촉진효과, 누에 추출물의 체내 활성산소 억제 및 투여가 뇌기능 보호 등의 약리 효능이 보고되었다[18,19]. 여주는 당뇨합병증 예방 효능과 항암 효능등이 보고되면서 기능성 소재로서 각광 받고 있다[20,21].

본 연구의 한계점으로는 항염증 기전에 대한 연구가 추가적으로 진행되어야 한다. *F. nucleatum*는 숙주 조직을 손상시키거나 숙주 조직 또는 다른 박테리아에 부착할 수 있는 독성 인자로 LPS를 가지고 있다. 그람 음성균의 내독소인 LPS는 lipid A, core oligosaccharide 및 O-specific polysaccharide로 구성되며 세부구조는 박테리아 종에 따라 다르다. 인체에 내독소로 작용하며 염증을 유발하는 인자인 LPS는 그람 음성세균의 대표적인 핵심 병독력인자이다. 림프구, 단핵구/대식세포와 같은 면역세포는 LPS의 다양한 염증-매개물질 유도에 의하여 질환부위로 이동하게 된다[22,23]. 염증은 세포 내 산화 스트레스를 증가시켜 세포 또는 조직의 손상, 변성, 종양 생성 등의 생성에 관여한다[24]. 따라서 향후 누에와 여주 추출물을 이용한 항염증 기전에 대한 연구가 필요하다.

REFERENCES

[1] Jørn A Aas et al. (2005). Defining the normal bacterial flora of the oral cavity. *Journal of Clinical Microbiology, 43(11),* 5721-32. DOI : 10.1128/JCM.43.11.5721-5732.2005

[2] C. L Hahn, W. A. Falkler & G. E. Jr, Minah. (1991). Microbiological studies of carious dentine from human teeth with irreversible pulpitis. *Arch Oral Biol, 36(2),* 147-153

[3] D. T. Graves, M. Oskoui, S. Voleinikova, G. Naguib, S. Cai, T. Desta, A. Kakouras & Y. Jiang. (2001). Tumor Necrosis Factor Modulates Fibroblast Apoptosis, PMN Recruitment, and Osteoclast Formation in Response to P. gingivalis Infection. *Journal of Dental Research, 80(10),* 1875-79.
DOI : 10.1177/00220345010800100301

[4] T. Hussain, B. Tan, Y. Yin, F. Blachier, M. C. Tossou & N. Rahu. (2016). Oxidative Stress and Inflammation: What Polyphenols Can Do for Us? *Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 4,* 1-9.

DOI : 10.1155/2016/7432797

[5] R. P. Illeperuma, Y. J. Park, J. M. Kim, J. Y. Bae, Z. M. Che, H. K. Son, M. R. Han, K. M. Kim & J. Kim. (2012). Immortalized gingival fibroblasts as a cytotoxicity test model for dental materials. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine, 23(3),* 753-762.
DOI : 10.1007/s10856-011-4473-6

[6] S.-N. Park, Y. K. Lim, J. Y. Shin, H. Roh & J.-K. Kook, (2017). Complete genome sequence of Fusobacterium nucleatum KCOM 1323 isolated from a human subgingival plaque of periodontitis lesion. *The Korean Journal of Microbiology, 53(3),* 219-221.
DOI : 10.7845/KJM.2017.7052

[7] M. J. Park, H. S. Kim, H. B. Kim, J. Park, C. Y. Yu & S. J. Cho. (2022). Effect of Stewartia koreana Nakai Branch Extracts on the Biofilm Formation of Porphyromonas gingivalis. *Journal of Life Science, 32(1),* 56-62.
DOI : 10.5352/JLS.2022.32.1.56

[8] H. S. Kim & S. J. Cho. (2019). Antibacterial and Antibiofilm Activities of Alnus japonica Stem Extract against Porphyromonas gingivalis. *Journal of Life Science, 29(12),* 1386-1392.
DOI : 10.5352/JLS.2019.29.12.1386

[9] I. G. Kim, H. Park, K. J. Kim, S. H. Kim, M. J. Kim, J. A. Lee & S. Roh. (2018). Mixture Bombyxmori L. and LiriopisseuOphiopogonis Tuber effects on T cells in Thymus, Lymph Nodes. *The Korea Journal of Herbology, 33(5),* 47-52.
DOI : 10.6116/KJH.2018.33.5.47

[10] K. J. Kim, H. J. Park, I. G. Kim, M. J. Kim, M. Shin, & S. Roh. (2018). Evaluation on Immunopotentiation Activities of Combined Extract of Silkworm and Cinnamomum cassia in vivo. *The Korea Journal of Herbology, 33(4),* 19-26.
DOI : 10.6116/kjh.2018.33.4.19

[11] J. H. Jeong, S. H. Lee, J. J. Hue, K. N. Lee, S. Y. Nam, Y. W. Yun, S. W. Jeong, Y. H. Lee & B. J. Lee. (2008). Effect of bitter melon (Momordica charantia) on anti-diabetic activity in C57BL/ 6J db/db mice. *Korean Journal of Veterinary Research, 48,* 327-336.

[12] M. J. Ahn, H. J. Yuk, H. Y. Lee, C. E. Hwang, Y. S. Jeong, S. Y. Hong, O. K. Kwon, S. S. Kang, H. R. Kim, D. S. Park & K. M. Cho. (2015). Effect of the enhanced biological activities and reduced bitter taste of bitter melon (Momordica charantia L.) by roasting. *Journal of Agriculture & Life Science, 49,* 107-119.

[13] S. W. Nam & M. Kim. (2015). A study on inhibitory activities on carbohydrase and anti-inflammatory activities of hot-water and ethanol extracts from immature dried bitter melon (Momordica charantia L.). *Journal of the East Asian Society of Dietary Life, 25,* 999-1006

[14] O. Kenny, T. J. Smyth, C. M. Hewage & N. P. Brunton. (2013). Antioxidant properties and quantitative UPLC-MS analysis of phenolic compounds from extracts of fenugreek (Trigonella foenum-graecum) seeds and bitter melon (Momordica charantia) fruit. *Food Chemistry, 141,* 4295-4302.
DOI : 10.1016/j.foodchem.2013.07.016

[15] J. S. Han, J. A. Kim, G. P. Han & D. S. Kim. (2004). Quality characteristic of functional cookies with added potato peel. *Korean Journal of Food and Cookery Science, 20,* 63-69.

[16] R. Einenkel, D. Muzzio, J. Ehrhardt & M. Zygmunt. (2019). Macrophage-mediated Regulatory Effect of *F. nucleatum* on Trophoblast Cells. *Placenta. 83,* e38.
DOI : 10.1016/j.placenta.2019.06.126

[17] D. Rupani, E. A. Izano, H. C. Schreiner, D. H. Fine & J. B. Kaplan, (2008, April). Aggregatibacter actinomycetemcomitans serotype f O-polysaccha ride mediates coaggregation with Fusobacterium nucleatum. *Oral Microbiology and Immunology. 2 3(2),* 127-130.
DOI : 10.1111/j.1399-302x.2007.00399.x

[18] Y. K. Kang, S. H. Nam, H. O. Sohn, D. W. Lee. (2005). Inhibitory effects of silkworm-extract (SE) on monoamine oxidase activity in vitro and in vivo. Entomological Research, 35, 189-193.

DOI: 10.1111/j.1748-5967.2005.tb00158.x

[19] Kang KK, Choi MJ, Nam SH. (2014). Effect of ethanolic extract of silkworm on reactive oxygen species formation in vivo. *Korean J. Oriental Physiology & Pathology. 28,* 379-383

[20] J. H. Moon, D. W. Choi, S. E. Kim, J. H. Seomoon, S. Y. Hong, H. K. Kim, K. M. Cho, J. Song, S. S. Kang, K. H. Kim & O. K. Kwon. (2015). Comparison of biological activities of ethanol extracts of unripe fruit of bitter melon (Momordica charantia L.) cultivated in hamyang, Korea. *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition, 44,* 1637-1644.
DOI : 10.3746/jkfn.2015.44.11.1637.

[21] K. Raina, D. Kumar & R. Agarwal. (2016). Promise of bitter melon (Momordica charantia) bioactives in cancer prevention and therapy.

Seminars in Cancer Biology, 40-41, 116-129. DOI : 10.1016/j.semcancer.2016.07.002

[22] J. K. M. Kopydlowski et al. (1999). Regulation of macrophage chemokine expression by lipopolysaccharide in vitro and in vivo. *The Journal of Immunology, 163(3),* 1537-44.

[23] O. J. Park, M. K. Cho, C. H. Yun & S. H. Han. (2015). Lipopolysaccharide of Aggregatibacter actinomycetemcomitans induces the expression of chemokines MCP-1, MIP-1α, and IP-10 via similar but distinct signaling pathways in murine macrophages. I*mmunobiology, 220(9),* 1067-74. DOI : 10.1016/j.imbio.2015.05.008

[24] Zewen Liu et al. (2018). Role of ROS and Nutritional Antioxidants in Human Diseases. *Frontiers in Physiology, 17(9),* 477. DOI : 10.3389/fphys.2018.00477

황 혜 정(Hye-Jeong Hwang) [종신회원]

· 2010년 2월 : 건양대학교 일반대학원 예방의학과(의학박사)
· 2012년 3월 ~ 현재 : 건양사이버대학교 보건의료복지학과 부교수
· 관심분야 : 보건교육, 감염관리, 예방의학, 웰에이징
· E-Mail : hhj@kycu.ac.kr

김 민 영(Min-Young Kim) [정회원]

· 2017년 2월 : 원광대학교 치의학과 (치의학박사)
· 2019년 9월 ~ 현재 : 호원대학교 치위생학과 교수
· 관심분야 : 치위생, 구강보건, 인문사회치의학
· E-Mail : 6514114@hanmail.net

강 경 희(Kyung-hee Kang) [종신회원]

· 2010년 2월 : 경북대학교 미생물학과 (이학박사)
· 2008년 3월 ~ 현재 : 건양대학교 치위생학과 교수
· 관심분야 : 치위생, 구강보건, 미생물, 웰에이징
· E-Mail : dhkhkang@konyang.ac.kr