

# 독활 메탄올 추출물의 *Streptococcus mutans*에 대한 성장, 산생성, 부착 및 비수용성 글루칸 합성 억제에 미치는 영향

유현희 · 서세정 · 김연화 · 이해연 · 금기천 · 나종찬 · 전병훈<sup>1</sup> · 유용욱\*

원광대학교 치과대학 구강생화학교실, 1: 원광대학교 한의과대학 병리학교실

## Effects of methanol extract of *Aralia continentalis* on the growth, acid production, adhesion, and insoluble glucan synthesis of *Streptococcus mutans*

Hyeon Hee Yu, Se Jeong Seo, Yeon Hwa Kim, Hae Youn Lee, Gi Chun Gum, Jong Chan Na, Byung Hun Jeon<sup>1</sup>, Yong Ouk You\*

Department of Oral Biochemistry, School of Dentistry, Wonkwang University,

1: Department of Oriental Pathology, College of Oriental Medicine, Wonkwang University

Dental plaque is a film of microorganisms on the tooth surface that plays an important part in the development of caries and periodontal diseases. *Streptococcus mutans* (*S. mutans*) is present in almost all types of dental plaque. Teeth and their supporting structure, the gums (gingiva) are subjected to infection by *S. mutans* that causes cavities and pyorrhea which, if left untreated, can eventually lead to gingivitis. Various chemical agents have been evaluated over the years with respect to their antimicrobial effects in the oral cavity; however, all are associated with side effects that prohibit regular long-term use. The present study was designed to investigate the effect of *Aralia continentalis* (Araliaceae) extracts on the growth, acid production, adhesion, and insoluble glucan synthesis of *S. mutans*. The methanol extract of *A. continentalis* showed concentration dependent inhibitory activity against the growth and acid production of *S. mutans*, and produced significant inhibition at the concentration of 0.25, 0.5, 1, 2 and 4 mg/ml compared to the control group. The extracts markedly inhibited *S. mutans* adherence to HA treated with saliva, and cell adherence was repressed by more than 60% at the concentration of 0.25 mg/ml and complete inhibition was observed at the concentration of 4 mg/ml. On the activity of glucosyltransferase which synthesizes water insoluble glucan from sucrose, methanol extract of *A. continentalis* showed more than 10% inhibition over the concentration of 0.25 mg/ml. The synthesis of insoluble glucan was decreased in the presence of 0.25 - 4 mg/ml of the methanol extract of *A. continentalis*. Hence, we conclude that *A. continentalis* might be a candidate of anticaries agent.

Key words : *Aralia continentalis*, dental caries, *Streptococcus mutans*

### 서 론

구강건강은 각 개인의 전신건강에 직접 또는 간접적으로 지대한 영향을 미치므로 매우 중요하다. 그러나 구강보건의 중요성에 대한 일반인들의 인식은 경제적 성장, 마스크의 발달, 구강진료 기

술의 발달 및 국민건강보험의 확대 적용 등으로 인하여 상당히 향상되고 있지만 아직도 인식의 개선이 미흡한 실정이다<sup>1,2)</sup>.

2001년 건강보험통계에 의하면 구강질환치료를 위해 지급되는 총진료비가 9,324억 원으로 건강보험으로 지급된 총진료비중 8위를 차지하고 있으며, 이는 5년전의 5,076억원에 비해 약 2배나 증가한 액수이다. 또한 2001년도 외래질환별 다발생진료순위 10위 안에 구강질환이 3개 (치수 및 치근단주위조직질환, 치아우식증, 치은염 등 치주질환)나 차지하고 있다<sup>3)</sup>.

\* 교신저자 : 유용욱, 익산시 신용동 원광대학교 치과대학 구강생화학교실

· E-mail : hope7788@wonkwang.ac.kr, · Tel : 063-850-6926

· 접수 : 2004/11/20 · 수정 : 2004/12/23 · 채택 : 2005/01/24

특히 치아우식증은 우리나라 국민의 치아상실원인 중 가장 큰 비중을 차지하고 있다. 우리나라 12세 아동의 우식경험영구 치수가 1972년에 0.6개<sup>4)</sup>이었고, 1979년에는 2.2개 (도시 2.5개<sup>5,6)</sup>, 비도시 1.7개<sup>7)</sup>이었으며, 1990년에는 3.0개 (도시 2.9개, 비도시 3.3개<sup>8)</sup>이었고, 1995년에는 3.1개 (도시 3.0개, 비도시 3.6개<sup>9)</sup>이었고, 2000년에는 3.30개로 1972년에 비해 5.5배나 증가하였으며, 이중 1.01개 (30.6%)<sup>10)</sup>는 방치된 치아이다. 그리고 5세 아동 1인 평균 우식경험 유지지수는 5.48개로서 선진국의 약5배에 이르는 수준이다<sup>3)</sup>.

우리나라 국민들이 치아를 상실하게 되는 원인 중 75.2%가 치아우식증 때문이며, 또한 5세부터 24세까지의 연령층에서 치아우식증이 치아발거 원인의 100%로 보고<sup>10)</sup>되어, 치아우식증은 한국인의 구강건강을 악화시키는 중대구강병으로 지적되고 있다<sup>11)</sup>.

치아우식증의 주된 원인은 치은연상 및 치은연하 치면세균막에 의하여 유발되는데, 치면세균막에는 많은 함량의 미생물이 존재하는 것으로 알려져 있다. 치면세균막내 미생물은 당질을 대사하여 유기산을 형성함으로써 치아의 경조직을 파괴하고, 미생물에 대한 인체의 염증 반응은 치주병을 유발하는 것으로 보고된 바 있다.

*Streptococcus mutans* (*S. mutans*)는 치면세균막형성에 가장 중요한 역할을 하는 원인균으로 알려져 있으며, *S. mutans*는 치아우식을 일으키는 주요 원인균으로 주목받고 있다<sup>12)</sup>. *S. mutans*는 G(+) 통성 혐기성세균으로 구강내의 치면세균막에 상주하여 섭취한 음식물에 포함된 탄수화물, 특히 포도당, 과당 등을 분해하고 그 대사과정에서 발생하는 부산물인 유기산 주로 젖산을 세포외로 방출함으로써 치아 법랑질을 탈회시킨다<sup>12)</sup>.

치아우식증 예방을 위해 치면세균막 형성의 원인균 퇴치에 penicillin과 erythromycin 같은 항생제가 효과적인 역할을 하는 것으로 보고된 바 있지만, 장기간의 사용시 항생제에 대한 내성이 발생하므로 인해 임상에서 사용되지 못하고 있다<sup>12)</sup>. 그 외 불소 화합물의 이용법<sup>13-16)</sup>, 불소를 방출하는 여러 장치와 재료<sup>17-18)</sup>, 몇몇 자동 잇솔질 기구 등<sup>19)</sup>의 방법들이 개발되어 소개되어 왔다.

그러나, 아직까지도 치아우식이 주요한 치아상실의 원인으로 부각되는 것은 이러한 방법이 충분한 효과를 거두지 못하고 있다는 증거이다. 따라서 보다 효과적이고, 실용적이며, 안정성이 있는 치아우식증 예방법의 개발이 요구되고 있는 실정이다.

동의보감에 독활(*Aralia continentalis* KITAGAWA)은 치통, 치주병 및 치은염의 치료에 사용한다고 기록되어 있으며<sup>20,21)</sup> 다른 문헌에도 치주질환에 널리 쓰여 왔다고 보고되었다<sup>22,23)</sup>. 또한 독활은 발한, 두통, 신경통, 피부질환 치료에 사용하며, 진통소염, 진정효과 및 항염증 효과도 있다고 한다<sup>24,26)</sup>.

그러나 아직까지 독활이 치면세균막 형성의 원인균인 *S. mutans*에 미치는 영향에 대한 과학적인 실험 결과는 보고가 미흡한 실정이다.

따라서 본 연구에서는 독활의 메탄올 추출물의 *S. mutans*의 성장과 산 생성 억제 효과, S-HA에 대한 부착억제와 비수용성 글루칸 합성 억제를 관찰하여 보고하고자 한다.

## 실험재료 및 방법

### 1. 연구재료

#### 1) 독활 추출물 준비

독활은 익산시 흥인당 한약재료상에서 구입한 후 냉암소에 보관하여 사용하였다. 건조하여 세절한 독활 5kg을 80% 메탄올 50L로 상온에서 3일간 2회 추출하여 메탄올 추출물을 604g (12%)을 얻었다.

#### 2) 균주 및 배양

본 실험에 사용한 균주는 *Streptococcus mutans* ATCC 25175로 Brain heart infusion (BHI, Difco, USA) 액체배지에 1-2차 계대배양 후 같은 배지에 식균하여 37°C의 항온기에서 24시간 배양하여 사용하였다.

### 2. 연구방법

#### 1) *S. mutans*의 성장과 산 생성 억제 실험

1%의 glucose가 들어 있는 BHI 액체배지에 독활 메탄올 추출물을 첨가한 후 균을  $1 \times 10^8$  CFU/ml이 되게 접종하였다. 37°C의 항온기에서 24시간 배양한 후 BHI 액체배지를 기준으로 ELISA reader (Molecular Devices Co., CF., U.S.A.)를 이용하여 550 nm에서 흡광도를 측정하였으며, pH meter (ORIONSA 720, U.S.A.)를 이용하여 pH를 측정하여 산 생성 억제 효과를 관찰하였다. 대조군은 독활 추출물을 넣지 않고 시행하였다.

#### 2) 타액준비

타액은 건강한 성인 남자로부터 파라핀왁스로 자극하여 분리된 것을 냉각된 비이커에 채취한 다음, 채취된 타액은 원심분리 (12,000 rpm, 4°C, 15분)하여 상청액을 취한 다음, 분해효소를 불활성화시키기 위하여 60°C에서 30분간 처리한 후, -20°C에 보관하면서 사용하였다.

#### 3) S-HA에 부착 억제 실험

Hydroxyapatite beads (Bio-Rad Lab., U.S.A.) 30mg을 증류수로 5회 세척하여 작은 입자를 제거한 후 37°C에서 건조시켜 사용하였다. 건조된 hydroxyapatite bead 30mg을 1ml의 타액으로 37°C에서 60분간 처리하여 타액을 bead에 코팅시켰다. 그 후 S-HA를 0.1 M potassium phosphate buffer (KPB, pH 7.0)으로 3회 세척한 후 독활의 메탄올 추출물을 각각의 농도별로 넣고, *S. mutans*를  $1 \times 10^7$  CFU/ml이 되게 넣은 다음 37°C의 흔들리는 배양기에서 90분 동안 S-HA에 부착시켰다. 그 후 0.1 M KPB (pH 7.0)로 3회 세척한 후 초음파 장치 (50W, 30초)를 이용해 S-HA에 부착된 균을 떨어지도록 하였다. 그 다음 균액을 희석하여 Mitis salivarius agar plate (Difco Laboratories, U.S.A.)에 도말하여 37°C 항온기에서 24시간 동안 배양시켜 집락수를 세었다. 대조군은 독활 추출물을 넣지 않고 시행하였다.

#### 4) Glucosyltransferases (GTFase)의 준비

다음과 같은 방법으로 GTFase를 얻는다. *S. mutans*를 BHI 액체배지 2L에 배양한 후, 원심분리 (15,000 rpm, 4°C, 20분)하여 상청액을 취한 후 60~70% ammonium sulfate를 넣은 후 다시 원심분리 (15,000 rpm, 4°C, 20분)하여 단백질을 가라앉혔다. 이

단백질에 0.1 M KPB (pH 6.0)을 4시간마다 바꾸어주며, 4°C에서 24시간동안 투석시킨 후 냉동보관 (-80 °C)하였다가 사용하였다.

5) GTFase에 의한 비수용성 글루칸 합성 억제능 검사

0.04% sodium azide를 첨가한 0.4 M KPB (pH 6.0)을 0.25 ml 취하여, 0.25 ml의 0.4M 자당용액, 0.25 ml의 각 농도별 독활 메탄올 추출물을 넣고, GTFase을 넣어 최종 1 ml이 되게 하였다. 37°C에서 18시간 배양한 후 증류수로 세척한 후 글루칸을 떼어 내기 위하여 초음파장치 (40W, 4초)를 이용하였다. 그 후 5% phenol을 1 ml, 진한 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>를 5 ml 넣어준 후 30분간 반응시킨 후 ELISA reader (Molecular Devices Co., CF., U.S.A.)를 이용하여 490 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조군은 시험물질을 넣지 않은 군을 대조군으로 하였다.

3. 통계처리

실험은 모두 3회 반복하였으며, 억제비율은 [(대조군-실험군)/대조군]×100의 식을 이용하여 계산하였다. 얻은 결과는 통계 프로그램인 SPSS (ver 10.0) 를 사용하여, 평균과 표준편차로 제시하였으며, α=0.05 수준에서 실험군과 대조군의 평균치를 independent sample t- test로 유의성을 검증하였다.

실험성적

1. 독활의 메탄올 추출물의 *S. mutans* 성장억제에 미치는 효과

독활 메탄올 추출물의 농도별 *S. mutans*에 대한 항균 활성을 관찰하기 위하여 BHI 액체배지에 독활의 메탄올 추출물을 각각 0.25, 0.5, 1, 2, 4 mg/ml의 농도로 첨가한 후, *S. mutans*를 접종하여 37°C 항온기에서 24시간 배양한 후 흡광도를 측정한 결과는 Fig. 1과 같다. 독활 추출물을 넣지 않은 대조군에서 0.501±0.015 흡광도를 나타내었다. 그런데, 0.25 mg/ml 농도에서 0.030±0.003 흡광도를 나타내고, 0.5 mg/ml 농도에서는 0.026±0.002, 1 mg/ml 농도에서는 0.015±0.004, 2 mg/ml 에서는 0.008±0.009, 4 mg/ml 에서는 0.007±0.018을 나타내어, 0.25 mg/ml 이상 농도에서 대조군에 비하여 통계적으로 유의한 차이를 나타내었다 (p<0.01). 대조군에 비하여 각각 94%, 95%, 97%, 98%, 99%의 성장억제 효과를 나타내었다.

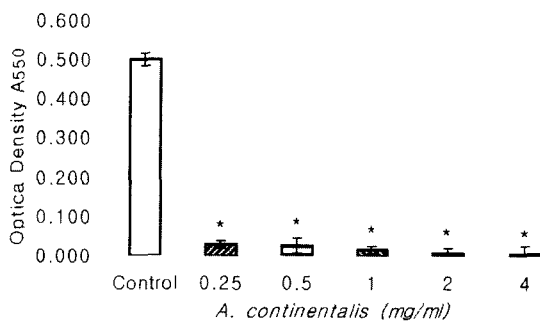


Fig. 1. The optical density of *Streptococcus mutans* by various concentrations of methanol extract of *Aralia continentalis*. The optical density of A550 were read by a spectrophotometer. \*p<0.01 was statistically significant as determined by independent sample t-test for the mean values different from the control group.

2. 독활의 메탄올 추출물의 *S. mutans* 산 생성 억제에 미치는 효과

독활의 메탄올 추출물 첨가에 따른 *S. mutans*에 의한 유기산 생성 억제 효과를 알아보기 위해 0.25, 0.5, 1, 2, 4 mg/ml 농도의 시료에 *S. mutans*를 접종하여 24시간 배양 후에 pH meter로 pH를 측정한 결과는 Table 1과 같다. 독활 추출물을 넣지 않은 대조군에서 pH는 5.50±0.19을 나타내었다. 메탄올 추출물은 0.25 mg/ml 농도에서 7.15±0.01, 0.5 mg/ml 농도에서는 7.14±0.01, 1 mg/ml 농도에서는 7.10±0.15, 2 mg/ml 농도에서는 7.09±0.06, 4 mg/ml 농도에서는 7.10±0.05로, 0.25 mg/ml 이상 농도에서 대조군에 비하여 통계적으로 유의한 차이를 나타내었다(p<0.01).

Table 1. The pH of *Streptococcus mutans* by the various concentrations of methanol extract of *Aralia continentalis*.

Conc.(mg/ml)	pH
Control	5.50±0.19 <sup>b)</sup>
0.25	7.10±0.01*
0.5	7.14±0.01*
1	7.10±0.15*
2	7.09±0.06*
4	7.10±0.05*

<sup>b)</sup>Value represent the Mean±SD obtained from triplicate experiment \*p<0.01 was statistically significant as determined by independent sample t-test for the mean values different from the control group

3. 독활 메탄올 추출물의 S-HA 부착 억제에 미치는 효과

독활 메탄올 추출물이 S-HA에 *S. mutans* 부착 억제 효과가 있는지 알아본 결과 (Fig. 2) 대조군은 511±1.41 (×10<sup>4</sup>) CFU/ml 이었으며, 메탄올 추출물 0.25 mg/ml 농도에서는 205±7.07 (×10<sup>4</sup>) CFU/ml, 0.5 mg/ml 농도에서는 150±28.28 (×10<sup>4</sup>) CFU/ml, 1 mg/ml 농도에서는 65±7.07 (×10<sup>4</sup>) CFU/ml, 2 mg/ml 농도에서는 5±4.03 (×10<sup>4</sup>)CFU/ml, 4 mg/ml 농도에서 0.3±0.07 (×10<sup>4</sup>) CFU/ml로 대조군에 비하여 부착하는 균 수가 유의하게 적어졌으며 (p<0.01), 대조군에 비해 각각 60%, 71%, 87%, 99%, 100%의 부착억제율을 보였다.

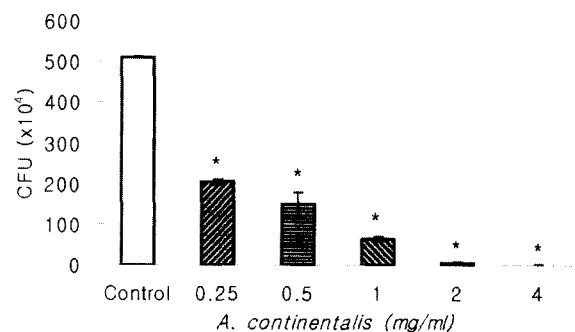


Fig. 2. The colony forming unit (CFU) of *Streptococcus mutans* to the 30 mg saliva-coated hydroxyapatite beads by various concentrations of methanol extract of *Aralia continentalis*. \*p<0.01 was statistically significant as determined by independent sample t-test for the mean values different from the control group.

4. 독활 메탄올 추출물의 GTFase에 의한 비수용성 글루칸 합성 억제에 미치는 효과

독활의 추출물이 비수용성 글루칸 합성 저해 효과가 있는지

알아본 결과는 Fig. 3과 같다. 메탄올 추출물은 대조군에 비해 0.25, 0.5, 1, 2, 4 mg/ml 각각의 농도에서 87.41±7.23 %, 81.88±4.95 %, 79.85±2.81 %, 78.72±5.07 %, 76.28±0.14 %의 생성율을 보여, 대조군 보다 모두 유의하게 적었다(p<0.01).

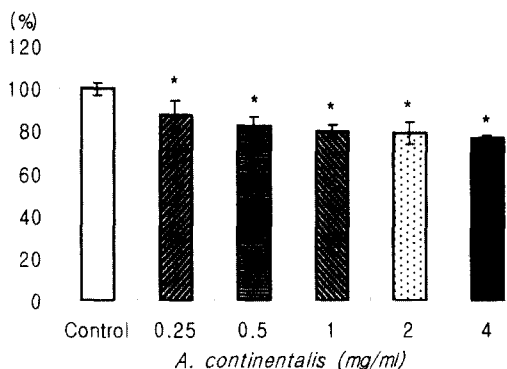


Fig. 3. Rate of loss insoluble glucan of *Streptococcus mutans* by the various concentrations of methanol extract of *Aralia continentalis*. \*p<0.01 was statistically significant as determined by independent sample t-test for the mean values different from the control group.

## 고 찰

독활은 오가과 (五加科) (오갈피나무과 ; Araliaceae) 에 속하는 다년생 초본식물인 땃두릅의 뿌리로 독요초 (獨搖草), 장생초 (長生草), 독골 (獨滑)이라고도 한다<sup>22,24</sup>. 중국에서는 산형과(繖形科) (미나리과 ; Umbelliferae)에 속하는 다년생 초본식물인 모당귀 (毛當歸)와 동속 식물의 뿌리를 쓴다<sup>24</sup>. 독활의 화학적 성분은 osthol, osthenol, columbianosidin, columbianetin acetate, columbianetin, bergapten, angelols A-H, angelicone (glabralactone), umbeliferone, scopoletin, angelic acid, tiglic acid, palmitic acid, flavonoids, psoralen, xanthotoxin, isopimpinellin, byakangelicin, coumurrayin, 7-methoxy-8-seneciocoumarin, scolopoleitin, prenylcoumarins 8-(3-h), isopentenyl-7-methoxy-8-seneciocoumarin<sup>22,27</sup>등 이 보고되었다. 본 연구에서는 독활을 메탄올로 추출한 후 0.25, 0.5, 1, 2, 4 mg/ml 농도별 시료에 대한 *S. mutans*에 대한 성장억제 효과를 관찰한 결과 *S. mutans*의 성장율이 대조군에 비해 메탄올 추출물 0.25, 0.5, 1, 2, 4 mg/ml 농도에서 모두 90% 이상의 성장억제 효과를 나타내었다. 또한, 독활 메탄올 추출물을 넣지 않은 대조군에서 pH는 5.50±0.19을 나타내었으나, 독활 추출물 0.25, 0.5, 1, 2, 4 mg/ml 농도에서, 각각 7.10±0.01, 7.14±0.01, 7.10±0.15, 7.09±0.06, 7.10±0.05을 나타내어 *S. mutans*의 의한 유기산 생성을 억제하였음을 보여주었다.

각 농도별 독활 메탄올 추출물이 치아표면의 세균 부착을 억제하는지 알아보기 위해 S-HA에 대한 부착억제 효과를 확인한 결과 대조군에서는 511±1.41 (×10<sup>4</sup>) CFU/ml이 부착한 반면, 0.25, 0.5, 1, 2, 4 mg/ml 각각의 농도에서는 205±7.07 (×10<sup>4</sup>) CFU/ml, 150±28.28 (×10<sup>4</sup>) CFU/ml, 65±7.07 (×10<sup>4</sup>) CFU/ml, 5±4.03 (×10<sup>4</sup>) CFU/ml, 0.3±0.07 (×10<sup>4</sup>) CFU/ml의 부착을 보여,

대조군에 비해 각각 60%, 71%, 87%, 99%, 100%의 부착억제율을 보였다. *S. mutans*는 GTFase를 생산하여 자당으로부터 포도당 다량체인 글루칸을 합성한다. 글루칸은 수용성 글루칸인 텍스트란과 비수용성 글루칸인 뮤탱으로 분류된다. 뮤탱은 비수용성 성질과 점성으로 인해 구강내 세균이 치면과 구강 표면에 부착하는 것을 도와주며 세균의 응집을 유도하게 되어 지속적인 세균 증식을 가속화시킨다. 또한 부착기전이 없는 다른 병원균들의 부착 및 증식을 유도하여 치주질환을 야기할 뿐 아니라 치주 치료 후의 유지기 동안에 재발 가능성을 증가시킨다<sup>28,29</sup>. 이에 비수용성 글루칸 합성 실험을 한 결과 메탄올 추출물은 0.25, 0.5, 1, 2, 4 mg/ml 농도에서 대조군에 비해 각각 87.41±7.23%, 81.88±4.95%, 79.85±2.81%, 78.72±5.07%, 76.28±0.14%의 생성율을 보여, 대조군 보다 모두 유의하게 적었다 (p<0.01).

이상의 결과를 종합해 보면, 독활의 메탄올 추출물은 *S. mutans*의 성장 억제, 유기산의 생성 억제, S-HA에 대한 부착억제, 비수용성 글루칸 합성 억제에 효과가 있으며, 특히 *S. mutans*의 성장 억제, 유기산의 생성 억제에 특히 효과적임을 알 수 있었다. 이에, 앞으로 독활의 어떤 구성성분이 어떤 효과를 나타내는지에 대해서 순수정제 과정을 거쳐 연구가 더 진행되어야 할 것으로 사료된다.

## 결 론

치아우식 예방제를 개발하기 위해 천연물인 독활을 메탄올로 추출하여 *S. mutans*의 성장과 산 생성 억제 효과, S-HA에 대한 부착억제와 비수용성 글루칸 합성 억제를 측정하고 다음과 같은 결과를 얻었다.

*S. mutans*의 성장억제율이 독활 추출물을 넣지 않은 대조군에 비해 메탄올 추출물은 0.25, 0.5, 1, 2, 4 mg/ml 농도에서 대조군에 비하여 각각 94%, 95%, 97%, 98%, 99%로 매우 뛰어난 성장억제 효과를 나타내었다 (p<0.01). *S. mutans*의 산 생성량은 대조군에서 pH는 5.50±0.19이었고, 0.25, 0.5, 1, 2, 4 mg/ml 농도에서, 각각 7.15±0.01, 7.14±0.01, 7.10±0.15, 7.09±0.06, 7.10±0.05로 (p<0.01) 모든 농도에서 우식 임계 pH 5.5보다 높아 산 생성 억제 효과가 뛰어났다. S-HA에 *S. mutans* 부착율이 독활의 메탄올 추출물 0.25, 0.5, 1, 2, 4 mg/ml 농도에서 대조군에 비해 각각 60%, 71%, 87%, 99%, 100%의 부착억제율을 보였다 (p<0.01). GTFase에 의한 비수용성 글루칸 정량 실험을 한 결과 대조군에 비해 0.25, 0.5, 1, 2, 4 mg/ml 농도에서 각각 87.41±7.23%, 81.88±4.95%, 79.85±2.81%, 78.72±5.07%, 76.28±0.14 %의 생성율을 보여, 비수용성 글루칸 형성이 유의하게 감소하였다 (p<0.01). 이상의 결과를 토대로 하여 볼 때, 독활 메탄올 추출물은 *S. mutans*의 성장 억제, 유기산의 생성 억제, S-HA에 대한 부착억제, 비수용성 글루칸 합성 억제에 효과가 있으므로, 항치아우식 효과를 기대할 수 있을 것으로 보인다.

## 감사의 글

이 논문은 2004년도 한국과학재단의 지원에 의하여 연구되

있음 (R08-2004-000-10287-0).

## 참고문헌

1. 김종배, 최유진. 공중구강보건학. 서울: 교문사. 68-84, 1990.
2. 권호근, 백대일, 이영희, 김권수, 조본경. 로지스틱 다중회귀 분석에 의한 초등학교학생들의 치아우식증 발생 위험 요인에 관한 연구. 대한구강보건학회지 21, 1-22, 1997.
3. 김점자. 구강보건정책의 현황 및 방향 : 지역사회 구강보건 사업 내실화. 대한치과의사협회지 4월호, 253-257, 2003.
4. 한국구강보건협회. 한국인 구강질환 실태조사 결과보고, 1976.
5. 김무길. 대도시인의 구강보건실태 및 상대구강보건의료수요 조사연구. 대한구강보건학회지 4(1), 19-44, 1980.
6. 박종만. 소도시인의 구강보건실태 및 상대구강보건의료수요 조사연구. 대한구강보건학회지 5(1), 7-33, 1981.
7. 오상일, 김종배. 비도시인의 구강보건실태 및 상대구강보건의료수요 조사연구. 대한구강보건학회지 5(1), 55-82, 1981.
8. 김종배 외. 국민구강건강조사 보고서, 1991.
9. 국민구강보건연구소. 1995년 국민구강건강조사보고서, 1995.
10. 보건복지부. 2003년 구강보건사업안내. 2003.
11. 노인기, 문혁수, 백대일, 김종배. 한국사람 치아발거원인 비중에 관한 조사연구. 대한구강보건학회지 22(3), 183-193, 1998.
12. Tsuneno, N., Masa, T., Masao, H. Dental caries prevention by traditional chinese medicines. Plant Med 44, 100-106, 1982.
13. Svanberg, M., Rolla, G. *Streptococcus mutans* in plaque and saliva after mouthrinsing with SnF<sub>2</sub>. Scand J Dent Res 90, 292-298, 1982.
14. Svanberg, M., Westergren, G. Effect of SnF<sub>2</sub> administered as mouthrinse or topically applied, on *Sterptococcus mutans*, *Streptococcus sanguis* and lactobacilli in dental plaque and saliva. Scand J Dent Res 9, 123-129, 1983.
15. Zimmer, S., Barthel, C.R., Koehler, C., Roulet, J.F. Enamel fluoride retention after application of fluoride-containing rubber cups. Am J Dent 15(1), 11-14, 2002.
16. 황충주, 임선아. NaF 0.05%양치액 사용시 고정성 교정장치 장착 환자에서의 *Streptococcus mutans*변화에 관한 연구. 대치교정지 27, 539-548, 1997.
17. Gwinnet, A.J., Ceen, R.F. Plaque distribution on bonded bracket: a scanning microscope study. Am J Ortho 75, 667-667, 1979.
18. Wilson, T.G., Gregory, R.L. Clinical effectiveness of fluoride-releasing elastomers. I: Salivary *Streptococcus mutans* numbers. Am J Orthod Dentofacial Orthop 107(3), 293-297, 1995.
19. Boyd, R.L., Murray, P., Robertson, P.B. Effect of rotary electric toothbrush versus manual toothbrush on periodontal status during orthodontic treatment. Am J Orthod Dentofac Orthop 96, 342-347, 1989.
20. 허준 편. 원저 동의학 연구소 역. 동의보감. 서울: 여강 출판사. p. 773, 1994.
21. 허준 편. 동의보감 국역 위원회 역. 동의보감. 서울: 법인 문화사 p. 1632, 1999.
22. 김창민 외. 중약대사전. 서울: 정담. 1380-1389, 1998.
23. 서부일, 변성희. 국역본초비요. 서울: 일평사. p. 171, 2000.
24. 김재익. 임상본초화학강좌. 서울: 대성의학사. 930-934, 2000.
25. 안덕균. 한국본초도감. 서울: 교학사. p. 33, 1999.
26. 최옥자. 실용동의약학. 서울: 일월서각. 392-393, 1990.
27. You-Ping, Zhu. Chinese Materia Medica : Chemistry, Pharmacology and Applications. Harwood academic publisher 450-454, 1998.
28. Wenham, D.G., Davies, R.M., Cole, J.A. Insoluble glucan synthesis by mutansucrase as determinant of the cariogenicity of *Streptococcus mutans*. J Gen Microbiol 127, 407-415, 1981.
29. Inieue, M., Koga, T., Sato, S., Hamada, S. Synthesis adherent insoluble glucan by the concerted action of the two glucosyltransferase components of *Streptococcus mutans*. FEBS Lett 143, 101-104, 1982.