

구강 상주균에 대한 편백 피톤치드의 항균효과

경희대학교 치의학전문대학원 구강내과학교실

어규식 · 홍정표 · 전양현

본 연구는 편백 피톤치드에 의해 사멸되지 않는 구강 상주균을 분리하고, 이 분리된 세균이 구강 병인균에 대하여 어떠한 영향을 미치는지를 관찰함으로써 편백 피톤치드에 구강 내 세균에 대한 지속적인 이차적 효과를 구명한 실험적 연구이다. 이에 건강한 사람의 타액에 1% 피톤치드를 첨가하여 최종적으로 생존해 있는 200개의 구강 상주균을 확인하여 이를 분석한 후 이들이 치주질환과 입냄새의 중요한 원인균인 *F. nucleatum*에 대한 억제효과를 관찰하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 선택된 200개의 잔존 세균 중, 70개(35.0%)가 *F. nucleatum*을 억제하였다.
2. *F. nucleatum*을 억제하는 70개의 잔존 세균 중, *Streptococcus salivarius*가 41.3%(45/109), *Streptococcus sanguinis*가 28%(7/25), *Streptococcus mitis*가 20%(3/15), *Streptococcus parasanguinis*가 33.3%(3/9), *Streptococcus alactolyticus*가 100%(8/8), *Streptococcus vestibularis*가 28.6%(2/7), *Streptococcus sp.*가 50%(2/4)로 나타났다.

결론적으로 피톤치드 처리 후의 잔존 세균이 *F. nucleatum*을 억제함으로써 피톤치드가 구강 건강, 특히 치주질환을 예방하거나 치료하는데 큰 역할을 할 수 있을 것으로 생각하며, 구강 상주균을 건강하게 유지시킨 채로 병인균 만을 억제시킨다는 차원에서 향후 구강내 유익균의 배양가능성을 실용화 할 수 있다고 생각한다.

주제어 : 구강 상주균, 편백 피톤치드, 항균작용, *F. nucleatum*

I. 서 론

타액은 건강한 구강상태를 유지하는데 매우 중요한 역할을 한다.¹⁾ 이는 구강점막을 보호하고 윤활작용, 항균작용, 혈액 응고작용, 완충작용 그리고 소화작용 및 수분대사의 조절, 배설작용과 용매작용 등을 하며²⁾ 여러 가지 무기물과 유기물, 특히 다양한 종류의 단백질을 포함하고 있는 복합 분비액이다. 또한 타액의 중요한 기능 중의 하나는 노출된 구강조직 표면

위로 항상 흐르면서 구강환경을 조절하는 것이다.³⁾

이러한 타액에는 수많은 세균이 존재하며, 그 중 질환을 일으키는 병원균이 포함되어 있다. 이들은 치아 우식증, 치주질환 등의 질환을 일으켜 통증 및 섭식기능에 장애를 일으키고 치아상실을 초래하기도 하나 타액 내 구강 상주균과 상호 작용하여 구강건강을 유지할 수 있도록 균형을 유지하고 있다.⁴⁾

하지만 타액내의 구강 상주균에 대한 중요성은 아직 잘 인지되지 못하고 있는 실정이다. 구강건조증시 아직 만족할 만한 치료법이 없이 대부분의 환자가 대증요법에 의한 치료를 받고 있는데, 이의 치료 효과는 저하된 타액분비기능의 2차적 영향을 최소화 하는데 달려있었다. 구강은 다양한 구강상주균이 존재하고 있는 상태로 이러한 세균학적 균형의 파괴에 의해 구강내의 다양한 질환이 발생되고 있는 점을 볼 때, 구강 상주균의 중요성은 반드시 인식되고 있어야 할 부분이다.

이에 저자는 구강 상주균을 건강하게 유지시킨 채로 병인성 세균만을 억제시킨다는 발상에서 천연물을 이용한 항균작용을 연구하게 되었다.

교신저자 : 어규식
서울시 동대문구 회기동 1번지
경희대학교 치과대학 구강내과학교실
전화 : 02-958-9418
Fax : 02-968-2043
E-mail : dental21@khu.ac.kr

원고접수일: 2009-08-27
원고수정일: 2009-09-23
심사완료일: 2009-10-12

* 이 연구는 2007년도 경희대학교 신임교수연구비 지원에 의한 연구임 (KHU-20071403)

최근 천연물의 활용성에 대한 이해가 넓어지고 연구가 활성화되면서 결과물에 대한 이용방안이 다양하게 모색되고 있다.⁵⁾ 편백나무(*Chamaecyparis obtusa*)는 일본과 대만 등에서 자생하고 있는 측백나무과 편백나무속의 상록 침엽 교목으로 일본이 원산지인데 우리나라의 남부지방에 조림된 뒤 성공적으로 생육하여 우리의 나무가 된 침엽수이다. 이러한 편백나무 줄기에는 독특한 향기가 있는 피톤치드가 다량 생산된다. 편백나무의 피톤치드는 세균, 진균 등 다양한 세균에 대한 항균작용이 있다.⁶⁾

피톤치드 정유(essential oil)는 식물체를 수증기로 증류하여 얻는 휘발성 방향성분을 말하는데, 이들 휘발성분들은 수십 종에서 많은 것은 200여 종에 달하는 phenolics, terpenoid, alkaloid, phenylpropane, acetogenin, steroid 등의 화합물로 구성되어 있다.⁷⁻⁹⁾ 이들은 세균 등의 공격으로부터 수목 자신을 보호하는 역할을 하는 것으로 알려져 있고, 이러한 현상은 식물의 본능적 방어기작으로 인지되고 있으며, 이를 어리라퍼시(allelopathy)라고 한다.¹⁰⁾

피톤치드가 주목을 끄는 것은 자신을 위협하는 각종 해충, 병원균, 곰팡이, 박테리아 등에게는 킬러의 역할을 하지만 인간에게는 도리어 이롭게 작용한다는 점이다. 피톤치드는 항균작용, 소취작용, 진정작용, 스트레스 해소 작용 등 수많은 기능을 하는 것으로 알려져 있으나 아직까지도 피톤치드의 효능에 대해 밝혀진 것은 극히 일부분에 지나지 않는다.⁶⁾

최근, 오랜 기간 화학적 항생제를 사용하여 항생제에 내성을 가진 병원균이 점점 늘어가고 있는 시점에서 항균효과가 있는 천연물질을 임상적으로 이용하려는 시도가 이루어지고 있다. 편백 피톤치드와 같이 항균효과, 항진균효과가 잘 알려진 천연물질과 구강상주균을 치료목적으로 사용이 가능한 지를 연구하는 것은 의미 있는 일이라고 생각된다.

본 연구는 편백 피톤치드에 의한 구강내의 세균 변화를 관찰함으로써 다양한 구강내 질환의 치료에 대해 좀 더 진보적인 접근을 하고자 함에 그 목적이 있다.

II. 실험재료 및 방법

1. 실험재료

무작위 추출된 20명의 건강한 사람의 전타액(whole saliva)을 사용하였으며, 피톤치드는 편백나무

(*Chamaecyparis obtusa* Sieb. et Zucc.)에서 추출한 정유로서 (주)SH제약에서 구입하였다(SH HINO-KITTIOL[®]). 실험에 사용한 균주는 치주질환 시 수직적인 골 흡수에 관여하는 치주감염균으로 G(-) 혐기성 병원균인 *F. nucleatum*의 균주 ATCC25586을 선택하였다.

균주를 배양한 배지로는 Tryptic soy broth (TSB; Difco)에 hemin (5 μ g/ml)과 vitamin K1 (0.2 μ g/ml)을 첨가하여 사용하였으며, 한천배지는 동일한 조성의 액체배지에 1.5% agar-agar와 5% 면양적혈구를 첨가하여 사용하였다.

2. 실험방법

1) 피톤치드 적용 후 전타액 내 생존균 배양

구강질환이 없는 25~30세의 건강한 남자 피검자 20명을 대상으로 타액을 수집하였다. 각 피검자로부터 자연 상태에서의 전타액(whole saliva) 3 ml을 채취한 직후 이를 3개의 microcentrifuge tube에 무균적으로 1 ml씩 분주하였고, 이 중 1개 tube는 생리식염수에 1:10으로 단계 희석하였다. 그 후 TSB 혈액한천 배지에 10¹~10¹¹까지 단계 희석된 타액을 100 μ l씩 도말한 다음 37 $^{\circ}$ C에서 혐기적(85% N₂, 10% CO₂, 5% H₂)으로 4~5일간 배양하였다.

나머지 2개의 tube에는 피톤치드를 최종농도 1%가 되도록 각각 첨가하고 1개 tube는 15분, 또 다른 tube는 30분간 37 $^{\circ}$ C에서 혐기상태로 정치시켰다. 정치 후, 생리식염수로 다시 1:10으로 단계 희석한 다음 100 μ l씩 TSB 혈액한천배지에 도말하고, 37 $^{\circ}$ C에서 혐기적(85% N₂, 10% CO₂, 5% H₂)으로 4~5일 동안 배양하였다.

배양 후 1% 피톤치드에 생존한 타액 세균은 한천 배지 상에 집락을 형성하였고 이들 집락 중에서 일부를 선택하여 균동정과 *F. nucleatum*에 대한 억제효과를 관찰하기 위해 사용하였다. 즉 1% 피톤치드를 30분간 처리하고 나서 피검자의 희석 타액 샘플을 도말하여 10개의 집락이 형성된 배지가 있을 때는 10개 모두를 취하였고, 10개의 집락이 형성되지 않은 경우에는 10개 보다 다소 많은 집락이 형성된 같은 피검자의 배지를 선택하여 이들 집락 중에서 무작위로 10개의 집락을 취하여 실험하였다.

2) 생존 구강상주균의 동정

세균이 성장하면서 생성하는 대사산물 또는 균체

효소의 반응에 의해 GP card 내의 각 well 내부의 형광물질인 4MU (4-Methyl Umbelliferone) 또는 7AMC (7-Amino Methyl Coumarine)의 형광도가 감소 또는 증가하는 원리를 이용한 Vitek Sytem (bioMérieux Vitek Inc., SA, Marcy-I'Étole, France) 을 사용하여 균동정을 시행하였다.

우선, 혈액한천배지에 형성된 집락을 계대배양하여 다른 세균이 오염되지 않은 1개의 순수 집락(pure culture)임을 확인하였다. 적정 시간(18-24시간) 배양된 신선한 집락을 멸균 식염수(0.45-0.5% NaCl, pH 5.0-7.2)에 부유시켜 MacFarland 표준 탁도 0.5가 되도록 균 부유액을 만들었다. 사용할 GP카드를 미리 냉장고에서 꺼내어 실온에 30분간 정치시켰다. 균 부유액과 동정-GP card(ID-GP)를 Vitek Sytem에 장착하고 24시간 후 결과를 확인하였다. 즉, Vitek Sytem의 Fluorescence Optical System은 15분마다 카드를 24시간 reading하여 대사산물 또는 균체 효소 반응으로 나타난 형광도를 측정하였고 VITEK2 전용 프로그램은 이 형광도의 측정치를 분석하여 세균을 동정하였다. 동정을 위한 검사항목은 다음과 같았다: D-amygdalin, phosphatidylinositol phospholipase C, D-xylose, arginine dihydrolase 1, b-galactosidase, a-glucosidase, Ala-Phe-Pro acylamidase, cyclodextrin, L-aspartate acrylamidase, b-galactopyranosidase, a-mannosidase, phosphatase, leucine acrylamidase, L-proline acrylamidase, b-glucuronidase, a-galactosidase, L-pyrrolidonyl-acrylamidase, b-glucuronidase, tyrosine acrylamidase, D-sorbitol, urease, polymyxin B resistance, D-galactose, D-ribose, L-lactate alkalization, lactose, N-acetyl-D-glucosamine, D-maltose, bacitracin resistance, novobiocin resistance, growth in 6.5% NaCl, D-mannitol, D-mannose, methyl-B-D-glucopyranoside, pullulan, D-raffinose, 0/129 resistance, salicin, saccharose/sucrose, D-trehalose, arginine dihydrolase 2, optochin resistance.

3) Antibacterial effect의 확인

배양된 각 *F. nucleatum* ATCC25586을 새로운 TSB 혈액한천배지 상에 거리를 둔 2개의 줄로 접종하였다. 한편 타액 샘플에서 분리한 균주를 TSB 혈액한천배지에 배양한 다음 백금이를 사용하여 각 *F. nucleatum* 접종선과 직각으로 교차하도록 5개 균주를 적당한 간격으로 접종하였다. 이와 같이 1개 TSB

혈액한천배지 당 총 10개의 분리균주를 접종한 다음 혐기적(85% N₂, 10% CO₂, 5% H₂)으로 48시간 배양하였다. 배양 후 분리균주의 접종선과 교차하는 자리에서 분리균주는 증식하여 뚜렷한 집락을 관찰할 수 있지만 *F. nucleatum*의 집락은 형성되지 않았을 경우 분리균주는 *F. nucleatum*에 대한 억제효과가 있는 것으로 판단하였다.

III. 결 과

타액에 1% 피톤치드를 처리한 20개의 표본에서 분리된 세균들을 각각 임의로 10개의 집락을 채택하여 동정한 200개의 잔존 세균 중, 70개(35.0%)가 *F. nucleatum*을 억제하였는데, 억제하는 70개의 잔존 세균 중, *Streptococcus salivarius*가 41.3%(45/109), *Streptococcus sanguinis*가 28%.(7/25), *Streptococcus mitis*가 20%(3/15), *Streptococcus parasanguinis*가 33.3%(3/9), *Streptococcus alactolyticus*가 100%(8/8), *Streptococcus vestibularis*가 28.6%(2/7), *Streptococcus sp.*가 50%(2/4)로 나타났다.(Table 1,2)

IV. 총괄 및 고안

구강내 타액은 3대 타액선에서 분비된 타액과 구강 점막, 입술, 경구개와 연구개, 혀 등에 분포된 소타액선으로 부터 분비된 타액이 합쳐진 혼합타액으로서, 하루에 분비되는 총량은 약 1~1.5리터라고 알려져 있다.¹⁾

타액은 구강내에서 완충작용, 소화작용, 광화작용, 운할 및 점탄성(viscoelasticity), 점막보호작용, 항진균작용, 항바이러스작용, 그리고 항세균작용 등을 하는데, 타액 성분에 따라 그 기능이 다양하게 나타난다.²⁾

이러한 타액내에는 500종 이상의 세균이 1 ml의 타액 또는 1 mg 의 치태당 10⁸~10⁹의 농도로 존재한다.¹⁾ 이들은 치아우식증, 치주질환 등의 질환을 일으켜 통증 및 섭식기능에 장애를 일으키고 치아 상실을 초래하기도 한다.

유해성 구강 상주균에는 *mutans streptococci*, *Porphyromons*, *Prevotella*, *Fusobacterium*, *spirochetes*, *Candida albicans* 등이 있다. 이들이 상주균으로 구강에 존재하다가 유해균으로 전환되는 데에는, 즉 기회감염(opportunistic infection)을 유발하는

Table 1. Comparison of bacterial species isolates from phytoncide-treated saliva for *F. nucleatum*-inhibiting activity

Bacterial species isolated	No. of isolates inhibiting <i>F. nucleatum</i> (%)
<i>Streptococcus salivarius</i>	45/109(41.3)
<i>Streptococcus sanguinis</i>	7/25(28.0)
<i>Streptococcus mitis</i>	3/15(20.0)
<i>Streptococcus parasanguinis</i>	3/9(33.3)
<i>Streptococcus oralis</i>	0/8(00.0)
<i>Streptococcus alactolyticus</i>	8/8(100.0)
<i>Streptococcus vestibularis</i>	2/7(28.6)
<i>Streptococcus sp.</i>	2/4(50.0)
<i>Streptococcus cricetus</i>	0/2(00.0)
<i>Kocuria kristinae</i>	0/1(00.0)
<i>Kocuria rosea</i>	0/1(00.0)
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	0/1(00.0)
<i>Staphylococcus simulans</i>	0/1(00.0)
<i>Staphylococcus warneri</i>	0/1(00.0)
<i>Streptococcus zooepidemicus</i>	0/1(00.0)
<i>Streptococcus ovis</i>	0/1(00.0)
<i>Streptococcus intermedius</i>	0/1(00.0)
<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	0/1(00.0)
<i>Gemella (Strep.) morbillorum</i>	0/1(00.0)
<i>Gardnerella vaginalis</i>	0/1(00.0)
ND	0/2(00.0)
	70/200(35.0)

ND; not determined

데에는 촉발인자가 관여하고, 이로 인해 이들 유해균이 우세해지고 구강질환이 야기된다.¹²⁾

특히 *F. nucleatum*은 치주질환이 없는 건강한 조직의 치은연하 치태에서도 가장 빈번히 검출되는 세균들 중의 하나이며 치주질환이 있는 경우에는 약 10배가량 증가된다는 보고가 있다^{13,14,15,16)}. 또한 *P. gingivalis*, *P. intermedia*와 더불어 *F. nucleatum*은 입냄새를 야기하는 중요한 세균으로 분류되는데 이러한 구강세균에 의해 단백질, 펩타이드, 아미노산이 분해되면서 휘발성 황화합물이 발생된다는 사실을 볼 때 상기 세균의 증식을 억제하는 것이 입냄새 치

료에 필수적이지만,¹⁷⁻²⁰⁾ 구강상주균의 생균효과를 이용하여 병원성 세균을 억제하는 연구는 비교적 희귀하다고 할 수 있다.

일반적으로 구강청정제는 불소, 알코올, 세제, 항균 물질을 포함한다. 이상적인 항균물질은 더 많은 세균에 효과적이고 빠르게 작용하며, 저 농도에서 활성도를 유지해야하며, 부작용이 없어야 하고, 불편감없이 사용할 수 있어야 한다. 빈번하게 사용되는 항균성 화학약품으로는 povidone iodine products, chlorhexidine, 염화세틸피리디움(CPC)이 있다. 그리고 최근에는 화학약품에 대체하여 자연항균물질이

Table 2. Inhibitory effect of bacterial isolates from the phytoncide-treated saliva on *F. nucleatum*

Subjects	Bacterial species	No. of bacteria inhibiting <i>F. nucleatum</i> (%)
1	<i>Streptococcus salivarius</i>	3/5(60.0)
	<i>Streptococcus sanguinis</i>	1/3(33.3)
	<i>Streptococcus alactolyticus</i>	2/2(100.0)
2	<i>Streptococcus salivarius</i>	6/10(60.0)
3	<i>Streptococcus salivarius</i>	6/8 (75.0)
	<i>Streptococcus sanguinis</i>	0/1(0.0)
	<i>Streptococcus alactolyticus</i>	1/1(100.0)
4	<i>Streptococcus salivarius</i>	3/7 (42.9)
	<i>Streptococcus sanguinis</i>	0/1 (0.0)
	<i>Streptococcus vestibularis</i>	1/1 (100.0)
	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	1/1 (100.0)
5	<i>Streptococcus salivarius</i>	3/6 (50.0)
	<i>Streptococcus sanguinis</i>	0/4 (0.0)
6	<i>Streptococcus salivarius</i>	2/8 (25.0)
	<i>Streptococcus vestibularis</i>	1/2 (50.0)
7	<i>Streptococcus mitis</i>	2/5 (40.0)
	<i>Streptococcus sanguinis</i>	0/1 (0.0)
	<i>Staphylococcus warneri</i>	0/1 (0.0)
	<i>Kocuria (Micrococcus) rosea</i>	0/1 (0.0)
	<i>Streptococcus sp.</i>	0/1 (0.0)
	ND	0/1 (0.0)
8	<i>Streptococcus salivarius</i>	2/3 (66.7)
	<i>Streptococcus vestibularis</i>	0/2 (0.0)
	<i>Streptococcus sanguinis</i>	2/2 (100.0)
	<i>Streptococcus parasanguinis</i>	1/2 (50.0)
	<i>Streptococcus alactolyticus</i>	1/1 (100.0)
9	<i>Streptococcus mitis</i>	0/4 (0.0)
	<i>Streptococcus salivarius</i>	1/2 (50.0)
	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	0/1 (0.0)
	<i>Staphylococcus simulans</i>	0/1 (0.0)
	<i>Streptococcus oralis</i>	0/1 (0.0)
	<i>Streptococcus zooepidemicus</i>	0/1 (0.0)

Table 2. (계속)

Subjects	Bacterial species	No. of bacteria inhibiting <i>F. nucleatum</i> (%)
10	<i>Streptococcus salivarius</i>	4/9 (44.4)
	<i>Streptococcus sp.</i>	1/1 (100.0)
11	<i>Streptococcus salivarius</i>	4/8 (50.0)
	<i>Streptococcus sanguinis</i>	0/2 (0.0)
12	<i>Streptococcus salivarius</i>	6/9 (66.7)
	<i>Streptococcus sanguinis</i>	1/1 (100.0)
13	<i>Streptococcus parasanguinis</i>	1/4 (25.0)
	<i>Streptococcus alactolyticus</i>	3/3 (100.0)
	<i>Streptococcus oralis</i>	0/2 (0.0)
	<i>Streptococcus mitis</i>	0/1 (0.0)
14	<i>Streptococcus sanguinis</i>	2/3 (66.7)
	<i>Streptococcus salivarius</i>	0/3 (0.0)
	<i>Streptococcus sp.</i>	1/2 (50.0)
	<i>Streptococcus cricetus</i>	0/1 (0.0)
	ND	0/1 (0.0)
15	<i>Streptococcus salivarius</i>	3/5 (60.0)
	<i>Streptococcus parasanguinis</i>	1/3 (33.3)
	<i>Streptococcus oralis</i>	0/1 (50.0)
	<i>Streptococcus ovis</i>	0/1 (0.0)
16	<i>Streptococcus salivarius</i>	0/10 (0.0)
17	<i>Streptococcus salivarius</i>	2/8 (25.0)
	<i>Streptococcus sanguinis</i>	0/1 (0.0)
	<i>Kocuria (Micrococcus) kristinae</i>	0/1 (0.0)
18	<i>Streptococcus sanguinis</i>	0/4 (0.0)
	<i>Streptococcus oralis</i>	0/1 (0.0)
	<i>Streptococcus intermedius</i>	0/1 (0.0)
	<i>Gemella (Strep.) morbillorum</i>	0/1 (0.0)
	<i>Streptococcus cricetus</i>	0/1 (0.0)
	<i>Streptococcus salivarius</i>	0/1 (0.0)
	<i>Streptococcus mitis</i>	0/1 (0.0)

Table 2. (계속)

Subjects	Bacterial species	No. of bacteria inhibiting <i>F. nucleatum</i> (%)
19	<i>Streptococcus salivarius</i>	0/5 (0.0)
	<i>Streptococcus vestibularis</i>	0/2 (0.0)
	<i>Streptococcus alactolyticus</i>	1/1 (100.0)
	<i>Streptococcus mitis</i>	0/1 (0.0)
	<i>Streptococcus sanguinis</i>	0/1 (0.0)
20	<i>Streptococcus oralis</i>	0/3 (0.0)
	<i>Streptococcus mitis</i>	1/3 (33.3)
	<i>Streptococcus salivarius</i>	0/2 (0.0)
	<i>Streptococcus sanguinis</i>	1/1 (100.0)
	<i>Gardnerella vaginalis</i>	0/1 (0.0)

ND; not determined.

주목을 끌고 있다.²¹⁾

식물들은 화학물질을 생성하여 주위로 방산함으로써 다른 식물들에게 직간접적으로 영향을 주는 어리라퍼시(allelopathy) 기능을 가지고 있다.²²⁾ 이들 어리라퍼시 효과에 관여하는 물질로 알려진 것들은 대개 allelochemicals라는 2차 대사산물들로서, phenolics, terpenoid, alkaloid, phenylpropane, acetogenin, steroid 등이 있다.²³⁻²⁵⁾ Allelochemicals 중 휘발성 물질은 자연 상태에서 주위환경 내로 퍼져나가 서식처의 환경변화를 가져올 수 있게 하며, 이들 물질이 식물들의 생존과 적응에 상당한 역할을 하게 된다.²⁵⁾ 식물에서 생성되는 이들 화학물질은 증기, 압축, 추출 등의 방법으로 정유(essential oil)의 형태로 정제할 수 있다. 이 정유는 기능적인 측면에서 피톤치드라고도 불린다. 피톤치드는 일반적으로 휘발성(방향성)이며 그 주성분은 ‘테르펜(terpene)’ 이라고 하는 유기 화합물과 알칼로이드, 배당체, 플라보노이드, 페놀성 물질 등 약간의 비휘발성 물질로 이루어졌다.²⁶⁾

편백나무(*Chamaecyparis obtusa* Sieb. et Zucc.)는 현재 일본과 대만, 그리고 북한의 백두산 부근 등에서 자생하고 있는 측백나무과 편백나무속의 상록 침엽 교목으로 줄기에 독특한 향기가 있다. 편백나무는 건재 등에 사용되고 있으며, 그 정유는 향료, 살충제, 방향제 등에 이용되고 있다. 편백나무에서 추출한 휘발성 피톤치드는 광범위한 세균 및 진균종에 대해 강한

항균효과를 가지고 있다. 편백 피톤치드에 감수적인 세균으로는 그람 양성세균인 *Staphylococcus epidermidis*, 그람 음성세균인 *Vibrio parahemolyticus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas putida*, 효모형 곰팡이인 *Candida albicans*, 사상형 곰팡이인 *Aspergillus nidulus*, *Alternaria mali*, *Fusarium oxysporum* 등이 잘 알려져 있다.²⁷⁾

피톤치드는 수목자신을 보호하는 다양한 역할을 한다. 다른 식물에 대한 성장저해작용, 곤충이나 동물로부터 줄기나 잎을 보호하기 위한 섭식 저해작용, 곤충이나 동물로부터 줄기나 잎을 보호하기 위한 섭식 저해작용, 곤충이나 세균에 대하여 기피, 유인, 살충 작용을 하거나 병원균에 감염되지 않도록 살균작용을 행하는 등 실제로 그 역할은 매우 다양하다.²⁸⁾

정유의 항균기전에 대해선 알려진 것이 별로 없다. 위에서 언급한 것같이 일반적으로 세균의 세포막 투과성 증가와 이에 따른 세포질 유리에 의한 것으로 보인다. 이외에 세균 호흡대사에 영향을 미침으로써 항균효과를 발휘하는 것으로 생각된다.^{29,30)} Carson 등³¹⁾은 *Staphylococcus aureus*에 대한 tea tree 정유의 항균기전을 연구하였다. 이 결과 tea tree 정유는 세포용해를 일으킬 만큼 직접적으로 세균 세포벽에 손상을 주는 것은 아니고 세포벽이 약해지고 그 결과 세포막이 삼투압 변화에 의해 파괴되며, 동시에 자가 분해효소가 활성화되어 시간이 지남에 따라 세균의

자가분해(autolysis)를 야기한다고 추측하였다. 이들 연구자는 이런 항균기전 이외에도 다른 기전이 존재할 것으로 예상하였다. Oussalah 등³²⁾은 Spanish oregano, Chinese cinnamon, savory 정유가 *Escherichia coli* O157:H7 와 *Listeria monocytogenes* 의 세포막 통합성(integrity)에 영향을 미치고 세포내 ATP의 감소, 세포질 내용물 유출의 증가, 세포내 pH가 감소하는 현상이 나타난다고 보고하였다. 한편, 이들 연구자는 전자현미경으로 세균 세포막이 손상된 것을 관찰한 바 있다.

본 연구는 편백 피톤치드에 의한 구강 상주균의 변화를 관찰하는 연구로써, 특히 건강한 사람의 구강 상주균내의 세포의 변화를 관찰하며 그 양상과 추이를 추적해보는 연구이다. 이미 박 등³³⁾은 타액에 1% 피톤치드를 처리한 20개의 표본에서 분리된 세균들을 각각 임의로 10개의 집락을 채취하여 동정한 200개의 세균 중 109개(54.5%)가 *Streptococcus salivarius*로 가장 많이 나타났으며, *Streptococcus sanguinis*가 25개(12.5%), *Streptococcus mitis*가 15개(7.5%), *Streptococcus parasanguinis*가 9개(4.0%), *Streptococcus oralis*와 *Streptococcus alactolyticus*가 각각 8개씩(4.0%), *Streptococcus vestibularis*가 7개(3.5%), *Streptococcus sp.*가 4개(2.0%), *Streptococcus cricetus*가 2개(1.0%), *Kocuria kristinae*, *Kocuria rosea*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus simulans*, *Staphylococcus warneri*, *Streptococcus zooepidemicus*, *Streptococcus ovis*, *Streptococcus intermedius*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Gemella* (*Strep.*) *morbillosum*, *Gardnerella vaginalis*등이 각각 1개(0.5%)씩 나타났음을 보고한바 있어 이러한 세균들이 치주질환과 입냄새의 중요한 원인균인 *F. nucleatum*에 어떠한 영향을 미치는지를 검색함으로써, 피톤치드의 구강 상주균과 유해균에 대한 상호 관련 효과를 규명하고자 하였다.

본 논문에서 생존균주의 *F. nucleatum*에 대한 항균효과는 선택된 200개의 잔존 세균 중, 35.0%인 70개가 *F. nucleatum*을 억제하였던 것으로 나타났는데 (Table 1,2), 이는 피톤치드가 타액 내의 구강 병원균을 억제 내지는 살균시키고 또한 피톤치드에 저항하는 구강 상주균에 의하여 구강 병원균을 억제시킴으로써 보다 효율적인 항균작용을 하고 있음을 알 수 있었으며 향후 잔존 구강 상주균의 항균 기전 및 구강 내 투여시 안정성 등은 지속적으로 연구되어질 필요가 있다고 생각된다.

V. 결 론

본 연구는 편백 피톤치드에 의해 사멸되지 않는 구강 상주균을 분리하고, 이 분리된 세균이 구강 병원균에 대하여 어떠한 영향을 미치는지를 관찰함으로써 편백 피톤치드에 구강 내 세균에 대한 지속적인 이차적 효과를 구명한 실험적 연구이다. 이에 건강한 사람의 타액에 1% 피톤치드를 첨가하여 최종적으로 생존해 있는 200개의 구강 상주균을 확인하여 이를 분석한 후 이들이 치주질환과 입냄새의 중요한 원인균인 *F. nucleatum*에 대한 억제효과를 관찰하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 선택된 200개의 잔존 세균 중, 70개(35.0%)가 *F. nucleatum*을 억제하였다.
2. *F. nucleatum*을 억제하는 70개의 잔존 세균 중, *Streptococcus salivarius*가 41.3%(45/109), *Streptococcus sanguinis*가 28%(7/25), *Streptococcus mitis*가 20%(3/15), *Streptococcus parasanguinis*가 33.3%(3/9), *Streptococcus alactolyticus*가 100%(8/8), *Streptococcus vestibularis*가 28.6%(2/7), *Streptococcus sp.*가 50%(2/4)로 나타났다.

결론적으로 피톤치드 처리 후의 잔존 세균이 *F. nucleatum*을 억제함으로써 피톤치드가 구강 건강, 특히 치주질환을 예방하거나 치료하는데 큰 역할을 할 수 있을 것으로 생각하며, 구강 상주균을 건강하게 유지시킨 채로 병원균 만을 억제시킨다는 차원에서 향후 구강내 유익균의 배양가능성을 실용화 할 수 있다고 생각한다.

참 고 문 헌

1. 이승우 외. 구강진단학. 4판, 서울, 1990, 고문사, pp17.
2. 이종훈, 김중수. 구강생리학. 3판, 서울, 1989, 군자출판사, pp204-206.
3. 이진용. 타액단백질과 치태형성. 타액과 타액선 토론회 1995:27-35.
4. 강수경, 신미경, 어규식, 전양현, 홍정표. 구강병원균에 대한 편백 피톤치드의 항균작용. 대한구강내과학회지 2007;32:45-55.
5. 안정엽, 이성숙, 강하영. 편백(*Chanaecyparis obtusa*) 정유의 항균, 항염, 항산화 효과. J Soc Cosmet Scientists Korea 2004;30(4):503-507.
6. 이종한. 피부감염모양층에 대한 피톤치드의 역할. 중앙

- 대학교 학위논문 2005:19-21.
7. Welsh C. Complementary therapies in hospice care: touch with oils—a pertinent part of holistic care. *Am J hospice Palliat Care* 1997;14:42-44.
 8. Lis-Balchin M. Essential oils and aromatherapy: their modern role in healing. *J R Soc Health* 1977;117:324-329.
 9. 강하영, 오중환. 칩엽수 칩엽 정유의 방향성 이용적성. *임업연보* 1994;49:177-179.
 10. 강하영, 이성숙, 최인규. 칩엽수 수엽 정유의 항균성에 관한 연구. *한국임산에너지학회지* 1993;13(2):71-77.
 11. Rosan B, Lamont RJ. Dental plaque formation. *Microbes Infect* 2000;2:1599-1607.
 12. Papapanou PN. Population studies of microbial ecology in periodontal health and disease. *Ann Periodontol* 2002;7:54-61.
 13. Walker CB, Ratliff D, Muller D, Mandell R, Socransky SS. Medium for selective isolation of *Fusobacterium nucleatum* from human periodontal pockets. *J Clin Microbiol* 1979;10(6):844-849.
 14. Beck JD, Koch GG, Zambon JJ, Genco RJ, Tudor GE. Evaluation of oral bacteria as risk indicators for periodontitis in older adults. *J Periodontol* 1992;63(2):93-99.
 15. Vincent JW, Cornett WC, Falkler WA Jr, Montoya RG. Biologic activity of type I and type II *Fusobacterium nucleatum* isolates from clinically characterized sites. *J Periodontol* 1985;56(6):334 - 339.
 16. Moore WE, Moore LH, Ranney RR, Smibert RM, Burmeister JA, Schenkein HA. The microflora of periodontal sites showing active destructive progression. *J Clin Periodontol* 1991;18(10):729 - 739.
 17. Tonzetich J. Production and origin of oral malodor: a review of mechanism and methods of analysis. *J Periodontol* 1977;28:13-20.
 18. Tessier JF, Kulkarni GV. Bad breath: etiology and treatment. *Periodontic oral health Periodontic oral health* 1991;10:19-24.
 19. Scully C, El-Maaythah M, Poter SR, Greenman J. Breadth odor: etiopathogenesis, assessment and management. *Eur J Oral Sci* 1995;105:287-293.
 20. Kleinberg I, Westbay G. Salivary methanolic factors and involved in oral malodor formation. *J Periodontal* 1992;63:768-765.
 21. Morgan TD, Beezer AE, Mitchell JC, Bunch AW. A microcalorimetric comparison of the anti-Streptococcus mutans efficacy of plant extracts and antimicrobial agents in oral hygiene formations. *J Appl Microbiol* 2001;90: 53-58.
 22. Muller CH. Allelopathy as a factor in ecological process. *Vegetatio* 1969;18:348-357.
 23. 강하영, 정의배, 나기정, 윤신근. 칩엽수 정유의 생물학적 효능. *한국실험동물학회지* 1999;15(1):79-81.
 24. 강하영, 최인규, 정의배, 윤영원, 나기정, 오중환. 칩엽수 종으로부터 분리된 정유의 스트레스 완화효과. *한국실험동물학회지* 1998;14(1):93-96.
 25. Whittaker RH, Feeny PP. Alleochemics, chemical interactions between species. *Science* 1971;171:757-770.
 26. Schnaubelt K. Functional group therapy. *The International Journal of Aromatherapy* 2000;10:62-63.
 27. 이현옥, 백승화, 한동민. 편백정유의 항균효과. *Kor J Appl Microbiol Biotechnol* 2001;29:253-257.
 28. 미야자키 요시후미. 산림욕과 릴렉션. *후레 그란스자날사* 1994, 156-159.
 29. Cowan MM. Plant products as antimicrobial agents. *Clin Microbiol Rev* 1999;12:564-582.
 30. Cox SD, Mann CM, Markham JL et al. The mode of antimicrobial action of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil). *J Appl Microbiol* 2000;88:170-175.
 31. Carson CF, Mee BJ, Riley TV. Mechanism of action of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil on *Staphylococcus aureus* determined by time-kill, lysis, leakage, and salt tolerance assay and electron microscopy. *Antimicrob Agents Chemother* 2002;46:1914-1920.
 32. Nguefack J, Budde BB, Jakobsen M. Five essential oils from aromatic plants of Cameroon: their antibacterial activity and ability to permeabilize the cytoplasmic membrane of *Listeria innocua* examined by flow cytometry. *Lett Appl Microbiol* 2004;39:395-400.
 33. 박재봉, 어규식, 전양현, 홍정표. 피톤치드 처리 후의 잔존 구강 세균이 *Pr. intermedia*에 미치는 영향. *대한안면통증구강내과학회지* 2009;34(2):153-168.

- ABSTRACT -

Antibacterial Effect on Oral Normal flora of Phytoncide
from *Chamaecyparis Obtusa*

Q-Schick Auh, D.M.D.,M.S.D.,Ph.D., Jung-Pyo Hong, D.M.D.,M.S.D.,Ph.D.,
Yang-Hyun Chun, D.M.D.,M.S.D.,Ph.D.

Department of Oral Medicine, School of Dentistry, Kyung Hee University

The present study was performed to observe the effect of phytoncide on oral normal microflora and the inhibitory effect of the surviving resident oral bacteria on *F. nucleatum*. In this study, saliva from each of 20 healthy subjects was treated with 1% phytoncide from Japanese Hinoki (*Chamaecyparis obtusa* Sieb. et Zucc.). The surviving salivary bacterium were isolated on blood agar plates and identified by 16S rDNA sequencing. In order to select inhibitory isolates against *F. nucleatum*, the isolates from the phytoncide-treated saliva were cultured with *F. nucleatum*.

The results are as follows:

1. Among the 200 surviving resident oral bacterium, 70(35.0%) bacterium inhibit the growth of *F. nucleatum* on blood agar plates.
2. Among the 70 bacterium which inhibit *F. nucleatum*, *Streptococcus salivarius* was 41.3%(45/109), *Streptococcus sanguinis* was 28%(7/25), *Streptococcus mitis* was 20%(3/15), *Streptococcus parasanguinis* was 33.3%(3/9), *Streptococcus Alactolyticus* was 100%(8/8), *Streptococcus vestibularis* was 28.6%(2/7) and *Streptococcus sp. was* 50%(2/4).

Taken together, among the surviving resident oral bacterium, *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus sanguinis*, *Streptococcus mitis* were mainly observed to inhibit *F. nucleatum*. and they may exert an additional inhibitory activity against the periodontopathic bacterium. Therefore, phytoncide can be used to prevent and cease the progress of periodontal disease, halitosis. Thus it is expected to promote oral health.

Key words: Oral normal flora, Phytoncide, Antibacterial effect, *F. nucleatum*
