치주염 실험동물 모델에서 홍삼 추출물의 치조골 파괴 억제

정보현^{1*} · 마득상^{2*} · 유기연¹

¹강릉원주대학교 치과대학 해부학교실 및 구강과학연구소

²강릉원주대학교 치과대학 예방치학교실 및 구강과학연구소

Inhibition of Alveolar Bone Destruction by Red Ginseng Extract in an Experimental Animal Periodontitis Model

Bo Hyun Jung^{1*}, Deuk-Sang Ma^{2*}, and Ki-Yeon Yoo¹

¹Department of Anatomy and ²Department of Preventive and Public Health Dentistry,
College of Dentistry and Research Institute of Oral Science, Gangneung-Wonju National University

ABSTRACT Periodontitis is characterized by the inflammation of the periodontal apparatus due to bacterial infection. This study sought to evaluate the effects of red ginseng extract on alveolar bone destruction in mice with ligature-induced periodontitis (LIP). The red ginseng extract stock solution was diluted in the ratios of 200 mg/kg and 400 mg/kg. The LIP animal model was administered 50 μ L of each extract twice a day orally for 14 days. After 14 days, alveolar bone loss was analyzed by micro-computed tomography and tissue staining. It was observed that alveolar bone loss reduced in the experimental animal group that was administered red ginseng extract, and the gingival epithelium also showed recovery from periodontitis. These results suggest that red ginseng extract could inhibit alveolar bone destruction.

Key words: alveolar bone, gingival epithelium, inflammation, periodontitis, red ginseng

서 론

홍삼(red ginseng)은 인삼(ginseng)을 가공시킨 것으로 수증기 등으로 찌서 익힌 후 건조한 것을 말한다(Nam, 2005). 홍삼은 면역강화, 혈류개선, 피로회복 및 항산화 효과 등의 긍정적인 신체 효과를 가지고 있으며, 인체의 손상된 계통을 정상화하거나 강화하는 기능을 가지고 있는 것으로 알려져 있다. 홍삼은 부작용이 적고 인체에 다양한 긍정적 효과를 가지고 있기 때문에 과거부터 현재까지 널리 이용되고 있는 대표적인 건강기능식품이다(Brekhusman과 Dardymov, 1969; Kim 등, 2012; Liu와 Xio, 1992; Wang 등, 2010; Babiker 등, 2014; Zhang 등, 1996; Yun 등, 2001; Joo 등, 2005; Jung 등, 2005).

현재까지도 홍삼이 전신질환에 어떠한 영향을 미치는지에 대한 연구가 지속적으로 이루어지고 있다. 홍삼은 피로회복 및 면역조절을 활성화하여 급성 호흡기질환을 효과적으로 예방할 수 있음이 보고되었으며(Lee 등, 2012), 실험동물들

이용한 연구에서는 홍삼이 만성 비세균성 전립선염(chronic nonbacterial prostatitis)의 발생을 억제하고(Kang 등, 2019), 허혈성 뇌 손상 마우스 모델의 해마 뉴런 세포에서 글루타메이트(glutamate)를 매개로 한 신경독성 억제를 통한 신경 보호 효과가 보고된 바 있다(Kim 등, 2019).

홍삼에 대한 연구는 전신질환에 미치는 영향뿐만 아니라 구강 분야에서도 활발히 연구가 진행되고 있다. 고려 홍삼 추출물이 적재된 임플란트를 구강에 이식하여 골 형성과 골 유착 간의 연관성을 연구한 결과, 고려 홍삼 추출물에 의해 새로운 골 형성 및 임플란트 주변에서 구강조직의 밀도가 증가했음이 보고되었다(Kang 등, 2020b). 뿐만 아니라 염증성 측두하악 관절 통증 실험동물 모델에서 통증 행동 반응을 감소시키기도 하였다(Lee 등, 2017). 이처럼 구강질환과 관련된 홍삼의 효능 연구가 진행되고 있지만 치주염과 관련된 연구는 아직까지 활발하지 않다.

치주염은 그람 음성 세균이 치주조직에 침범하여 염증을 일으키는 질병이다(Page와 Schroeder, 1976; Socransky

Received 2 March 2021; Revised 13 May 2021; Accepted 11 June 2021

Corresponding author: Ki-Yeon Yoo, Department of Anatomy, College of Dentistry, Gangneung-Wonju National University, 7, Jukheon-gil, Gangneung, 25427, Korea, E-mail: kyyoo@gwnu.ac.kr

Author information: Bo Hyun Jung (Researcher), Deuk-Sang Ma (Professor), Ki-Yeon Yoo (Professor)

*These authors contributed equally to this work.

Copyright © 2021 by The Korean Society of Food Science and Nutrition. All rights Reserved.

This is Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

와 Haffajee, 2002). 치주염은 혐기성 세균 증식의 세균 감염으로 인한 염증성 질환으로서 치주염이 악화되면 치조골 소실로 치아 손실이 발생할 수 있기 때문에(Roshna와 Nandakumar, 2012; Teughels 등, 2000) 치주염의 발생과 악화를 예방하고 치료하는 것이 중요하다. 최근에 들어서는 치주염이 단순히 구강에 국한된 질병을 넘어 뇌혈관질환, 심혈관질환 및 동맥경화 악화와 관련된 인과관계를 제시하는 역학 연구 결과들이 보고되고 있다(Enhos 등, 2009; Malhotra 등, 2012).

홍삼에 대한 치주염에서의 효능성에 관한 연구가 시도되고 있지만 아직까지는 세포실험 단계에 그치고 있다. 치주염은 인체의 면역시스템에 영향을 받는 염증성 질환이기에 *in vivo*적인 연구가 필요하다. 따라서 최근에는 실험동물을 이용한 치주염 연구가 지속되고 있다. 치주염 실험동물 모델로는 인간의 구치부 구조와 유사하고 취급이 용이한 설치류가 주로 이용되고 있다(Oz와 Puleo, 2011). 치주염을 유발하는 방법에는 크게 치주염을 유발하는 주요 그람 음성 세균인 *Porphyromonas gingivalis*(*P. gingivalis*) 투여, *P. gingivalis* 내독소 성분의 지질다당류(lipopolysaccharide, LPS)인 PG-LPS 투여 및 봉합사를 이용한 결찰(치아 묶음)로 치주염을 유도하는 방법이 있다(Ishida 등, 2017; Leira 등, 2019; Rovin 등, 1966; Xiao 등, 2017). 특히 결찰로 치주염을 유도하는 방법은 결찰하는 봉합사에 세균이 축적되어 염증과 치조골 소실을 유발하기 때문에 치주염을 유도하는 적절한 방법이다(Rovin 등, 1966; Xiao 등, 2017).

따라서 본 연구에서는 결찰로 유도한 치주염(ligature-induced periodontitis; LIP) 실험동물 모델에서 유발되는 치조골 파괴가 홍삼 추출물 투여에 의해 억제될 수 있는지 방사선학적, 조직학적 방법을 통해 확인하고자 하였다.

재료 및 방법

실험동물

본 연구를 위해 4주령의 수컷 ICR 마우스(16~18 g)를 오리엔트바이오(Seongnam, Korea)로부터 구입하여 1주일 동안 사육실 환경에 적응시킨 후 5주령이 되었을 때 실험을 진행하였다. 실험동물들은 컨벤셔널 시스템을 사용하여 12시간 낮/밤 주기와 온도(22°C) 및 습도(50%)가 유지되는 곳에서 사육되었으며, 물과 사료를 자유롭게 섭취할 수 있도록 하였다. 본 실험의 모든 절차는 강릉원주대학교 동물실험윤리위원회(Institutional Animal Care and Use Committee)의 승인 하에(Approval No. GWNU-2019-26) 표준작업 지침서에 따라 수행하였다.

치주염 유발 및 홍삼 추출물 투여

치주염은 6-0 블랙 실크 봉합사(AILEE, Busan, Korea)를 이용하여 상악 좌측 제2대구치의 법랑질과 백악질의 경계인 치경부의 주변을 결찰 하였다(Fig. 1). 결찰은 14일 동

Fig. 1. Experimental animal model of ligature-induced periodontitis. Ligature was maintained for 14 days using 6-0 silk the maxillary left second molar of 5 weeks old ICR mice.

안 유지하였으며 이로 인한 특정 부작용은 발생하지 않았다.

6년근 홍삼을 물/에탄올로 열 역류 추출시켜 사포닌 함량이 추출물의 201.0~219.0 mg/g인 홍삼 추출물 원액을 한 방바이오(주)(Yongin, Korea)에서 기증받아 사용하였다. 홍삼 추출물 원액의 희석 농도는 이전의 논문들을 참고하여(Kang 등, 2013; Kim, 2008; Yang 등, 2014), 인산염 완충 식염수(phosphate-buffered saline, PBS)(Gibco, Grand Island, NY, USA)에 희석(200 mg/kg 및 400 mg/kg) 후 마이크로피펫(micropipette)으로 50 μ L씩 14일 동안 하루에 2번 구강 내에 투여하였다.

본 연구에서 홍삼 추출물이 결찰로 유도한 치주염 실험동물 모델에 미치는 영향을 확인하기 위해 실험동물을 각 실험군마다 10마리($n=10$)씩 사용하였으며, 희석한 홍삼 추출물의 농도를 상대적으로 비교하여 실험군을 나누었다. 실험군은 다음과 같다.

1. 정상군(CTL group = non-LIP + non-treated)
2. 치주염 유발군: 결찰로 치주염 유도한 실험군(LIP group = LIP + non-treated)
3. 저농도 투여군: 결찰 후 저농도 홍삼 투여한 실험군(LIP/Low group = LIP + 200 mg/kg of red ginseng treated)
4. 고농도 투여군: 결찰 후 고농도 홍삼 투여한 실험군(LIP/High group = LIP + 400 mg/kg of red ginseng treated)

조직처리

미세 단층 촬영(micro-computed tomography; Micro-CT)과 조직학적 분석을 위해 실험동물의 조직 처리는 모두 동일한 조건에서 진행하였다. 조직의 고정 및 적출을 위해 경주 탈골 후 흉곽을 개방하여 0.9% 식염수로 관류 세척한 다음 4% paraformaldehyde가 포함된 PBS(pH 7.5)로 관류 고정하였다. 관류 고정이 끝난 마우스의 상악을 적출하여

동일한 고정액에 8시간 후 고정하였다. 고정이 끝난 조직은 Micro-CT 촬영하였으며, 이후 파라핀 절편을 제작하기 위하여 자동처리기(Leica, Nussloch, Germany)에서 통상적인 탈수, 투명화 및 파라핀 침투과정을 거쳐 파라핀 블록을 제작하였다. 이후 5 μ m의 파라핀 절편을 식염수가 코팅된 슬라이드에 부착하여 조직 염색에 이용하였다.

미세 단층 촬영(Micro-CT)

Micro-CT(SkyScan1272, Bruker microCT, Kontich, Belgium)를 사용하여 치조골 소실을 분석하였다. X선 관의 전압과 전류는 90 kV와 88 μ A이며 노출 시간은 500 ms를 사용하였다. X선 투영은 180° 스캐닝 각도 회전으로 0.3° 간격으로 얻어졌다. 이미지는 2,240×2,240 픽셀로 디지털화 되었으며, 픽셀 크기는 14 μ m로 설정되었다. 모든 스캔은 NRecon 소프트웨어(Ver 1.7.04) 및 Dataviewer(Bruker-CT)를 사용하여 스캔 축과 해부학적 위치를 균일하게 정렬하였다.

Masson trichrome 염색(MT staining)

치주염을 유도한 상악 좌측 제2대구치의 주변 치주조직의 변화를 확인하기 위하여 Masson trichrome 염색을 수행하였다. 이 염색은 Trichrome Stain Kit(Abcam, Cambridge, UK)을 이용하였으며 다음과 같은 방법으로 진행하였다. 침샘 조직은 파라핀을 제거하기 위해 xylene에 10분씩 2회 세척하였다. 이후 파라핀이 제거된 조직은 100% 에탄올에 10분씩 2회 세척을 거친 후 통상적인 함수과정을 통해 함수하였다. 함수가 끝난 조직은 56~64°C의 항온수조에서 예비 가열한 Bouin's Fluid를 슬라이드 위에 뿌려 60분 동안 처리 한 후 10분 동안 실온에서 조직을 식혔다. 이후 조직에 Bouin's Fluid가 완전히 없어질 때까지 흐르는 물에 세척한 다음 증류수에 10분간 세척하였다. 세척한 조직에 Weigert's Iron Hematoxylin을 100 μ L씩 뿌린 다음 5분간 처리하였다. 염색 종료 후 조직은 흐르는 물에 2분간 세척하여 과염색된 염료를 제거하였다. 이후 Biebrich scarlet/acid fuchsin solution을 조직 위에 뿌리고 15분간 처리한 후 증류수에 10분간 세척하였다. 마지막으로 phosphomolybdic/phosphotungstic acid solution을 슬라이드에 뿌려 10분간 처리한 후 수세하지 않고 반응용액을 털어버린 다음 aniline blue solution을 슬라이드에 뿌리고 5분간 처리한 후 증류수로 10분 세척하였다. 세척이 끝난 조직은 acetic acid solution(1%)을 3분간 처리하였다. 처리한 조직은 세척하지 않고 반응용액을 털어버린 후 95% 에탄올과 100% 에탄올에 2분간 2회씩 빠르게 탈수 후 xylene에 2분간 담궈 Canada balsam(Kanto Chemical Co., Inc., Tokyo, Japan)을 이용하여 봉입하였다. 완성된 슬라이드는 CCD 카메라가 부착되어 있는 현미경(Axio Imager A2, Carl Zeiss, Göttingen, Germany)을 이용하여 촬영하였다.

자료분석 및 통계처리

Micro-CT에서 얻은 상악 좌측 제2대구치 이미지를 해부학적 위치에 맞게 정렬하였다. 치조골 소실의 측정을 위해 상악 좌측 제2대구치의 근심과 원심에서 백악법랑경계(cemento-enamel junction, CEJ)와 치조골정(alveolar bone crest, ABC) 사이의 거리를 측정하였다.

본 연구에 표시된 값은 평균±표준오차로 표시하였다. 각 실험군 간 값의 차이는 SPSS Statistics 25 프로그램(IBM, New York, NY, USA)을 이용하였고, one way ANOVA test 및 Scheffe test 사후검정을 이용하여 통계학적으로 분석하였다. 통계학적으로 *P* 값이 0.05 이하면 통계적으로 유의하다고 판단하였다.

결과 및 고찰

치조골 변화

결찰로 치주염 유도 이후 상악 제2대구치의 치조골 변화를 확인하기 위해 미세 단층 촬영 후 CEJ와 ABC 사이의 거리를 측정하였다. 정상군에서 CEJ와 ABC 사이의 거리는 근심에서 0.115±0.034 mm, 원심에서 0.086±0.033 mm로 정상적인 실험동물의 CEJ와 ABC 사이의 거리 범위 내에 있어 치조골 파괴가 없음을 확인하였다(Fig. 2A)(Abe와 Hajishengallis, 2013). 치주염 유발군에서 CEJ와 ABC 사이의 거리는 근심에서 0.646±0.172 mm, 원심에서 0.608±0.151 mm로 측정되어 정상군과 비교하였을 때 근심에서 약 5.62배, 원심에서 약 7.07배 증가하여 결찰에 의한 치조골 파괴가 확인되었다(Fig. 2B, 2E). 이와 같은 결과는 이전의 마우스 상악 제2대구치 결찰모델에서와 유사한 결과로 결찰에 의해 치주염이 유발되었음을 나타낸다(Kim 등, 2020).

저농도 투여군에서 CEJ와 ABC 사이의 거리는 근심에서 0.346±0.069 mm, 원심에서 0.28±0.032 mm로 측정되었다(Fig. 2C). 저농도 투여군의 경우 정상군과 비교하였을 때 근심에서 약 3.01배, 원심에서 약 3.26배의 CEJ와 ABC 사이의 거리가 증가하였지만, 치주염 유발군과 비교하였을 때 근심에서 약 1.87배, 원심에서 약 2.17배의 CEJ와 ABC 사이의 거리를 나타내어 치주염 유발에 의한 치조골 파괴가 감소한 것으로 확인되었다(Fig. 2E).

고농도 투여군에서 CEJ와 ABC 사이의 거리는 근심에서 0.271±0.074 mm, 원심에서 0.241±0.121 mm 측정되었다(Fig. 2D). 고농도 투여군의 경우 정상군과 비교하였을 때 근심에서 약 2.36배, 원심에서 약 2.80배 치조골 파괴가 증가하였지만, 치주염 유발군과 비교하였을 때 근심에서 약 2.38배, 원심에서 약 2.52배 치조골 파괴가 감소한 것으로 확인되었다(Fig. 2E).

치주염 유발군에서 치조골 파괴가 가장 많이 나타난 치주염 유발군에서 CEJ와 ABC 사이의 거리에 대한 결과는 이전의 연구 결과와 일치하는 경향을 보였다(Rovin 등, 1966; Xiao 등, 2017). 저농도 및 고농도 투여군 또한 정상군보다

Fig. 2. Representative micro-CT images and quantitative analysis of alveolar bone of the maxillary left second molar. (A) In the CTL group, it is observed significantly lower alveolar bone loss than the other groups, (B) LIP group, (C) LIP/Low group, (D) LIP/High group. (D) LIP/High group is observed significantly reduced alveolar bone loss compared with (B) and (C). (E) The amount of alveolar bone loss in LIP/High group was significantly lower than LIP group ($n=10$ per group; * $P<0.05$, significantly different from the CTL group; # $P<0.05$, significantly different from the LIP group). The bars indicate the means $\pm$ SEM.

치조골 파괴가 더 나타났지만 치주염 유발군보다 치조골 파괴가 유의한 차이를 나타내며 감소한 것으로 나타났다. 홍삼은 Lee 등(2012)의 연구에서 방사선에 의해 유발되는 골소실을 예방할 수 있다고 보고되었으며, Kim 등(2015)의 연구에서는 홍삼이 골다공증 예방 및 지연시키는 데 효과가 있음이 보고되었다. 이러한 이전의 연구 결과는 본 연구와 일치하는 경향을 보인다. 이뿐만 아니라 polycaprolactone (PCL) 기반 나노 섬유 내에서 인삼 추출물의 골유도 가능성을 조사한 결과에서도 인삼 추출물이 중간엽 줄기세포(mesenchymal stem cell)의 골 형성 분화를 활성화시켜 섬유 표면에 칼슘 함량이 높게 축적되었으며(Pajoumshariati 등, 2016), 사포닌(saponin) 성분이 골모세포(osteoblast)의 분화와 무기화 작용(mineralization)의 활성화를 자극시킨다는 것이 보고되었다(Huq 등, 2019). 이와 같이 홍삼, 인삼 혹은 관련 성분과 관련된 골 대사 조절에 대한 많은 증거들이 제시되고 있다. 이전의 홍삼과 골 관련 연구 결과들에 본 연구 결과를 비추어 보면 홍삼 추출물의 투여는 치주염 유발에 의한 치조골 파괴를 억제하며, 이러한 효과는 골유도 및 골 형성 등 골 대사를 조절하는 홍삼의 효능성과 매우 밀접한 연관이 있는 것으로 사료된다.

치주조직의 형태학적 변화

결찰에 의한 치주염 유발 이후 상악 제2대구치 주변 치주조직의 변화를 확인하기 위해 MT staining을 수행하였다. 상악 좌측 제2대구치 근심 및 원심에서 치은의 변화가 관찰되었다(Fig. 3). 정상군에서는 치은의 상피가 정상적으로 관찰되며 상피와 고유관 사이의 결합조직유두(connective tissue papillae)가 관찰되었다(Fig. 3A, 3A'). 치주염 유발군의 치은은 정상군과 비교하였을 때, 치은정(gingival crest) 없이 상피가 두꺼워진 것이 관찰되었으며 결합조직유두 또한 관찰되지 않았다(Fig. 3B, 3B'). 이전 연구에 따르

면 결찰로 유도한 치주염 실험동물 모델에서 염증세포의 침윤으로 결찰 6일 이후부터 MPO 양성 세포의 침투가 가속화됨이 보고되었다(Marchesan 등, 2018). 또한 치주염으로 인해 치은조직에서 TNF- α 및 IL-10이 증가하였으며(Kim 등, 2020), 치은조직에 염증 세포가 침윤되어 상피 및 결합조직이 소실되었음이 보고되어 치주염 유발 시 염증에 의한 치은조직 변화는 잘 알려져 있다(Marchesan 등, 2018; Liu 등, 2020). 정상적인 치은의 경우 상피의 두께가 과도하게 두껍거나 얇지 않으며, 결합조직 유두가 분명하게 존재한다(Francetti 등, 2019). 따라서 본 연구의 치주염 유발군에 대한 결과는 전형적인 치주염 유발에 대한 조직 병리학적 변화의 증거로서 치주염 유발군에서 상피의 변화가 나타나 치주염 유발 모델이 잘 구축된 것으로 볼 수 있다.

저농도 투여군의 치은에서 치은정이 관찰되었지만 정상군과 비교하였을 때, 상피가 두꺼워진 것이 관찰되었으며 결합조직유두가 불분명하게 관찰되었다(Fig. 3C, 3C'). 고농도 투여군의 치은에서는 치은정과 결합조직유두가 모두 관찰되었으며, 정상군과 같이 상피가 정상적으로 관찰되어 치주염 유발에 의한 치은조직의 염증성 변화 또한 억제하는 결과를 나타내었다(Fig. 3D, 3D'). 과거 많은 연구들에서 미생물의 감염에 대한 예방제로서 홍삼의 효능성에 대한 보고가 있었다(Iqbal과 Rhee, 2020). 홍삼 추출물의 처리가 헬리코박터 파일로리(*Helicobacter pylori*)에 감염된 위 상피세포 손상을 예방하고(Kang 등, 2020a; Cho 등, 2013), 각막 상피의 손상 치유 및 세균 감염을 억제하거나(Kim 등, 2017), 홍삼 추출물이 염증성 사이토카인을 안정화하며(Lee 등, 2012), TNF- α 및 IL-10의 활성을 조절하여 항염증 및 면역조절 효과에 대한 연구 결과들이 그 예이다(Boo 등, 2007; Lee와 Lau, 2011). 치주염 발생 시 치은조직에서 염증성 사이토카인들의 증가가 나타나고 그에 따른 치주조직의 염증성 변화를 유발하지만, 이전 연구 결과들에 본 연

Fig. 3. Masson Trichrome stain of the maxillary left second molar. Scale bar=100 μ m. (A and A') In the CTL group, it is observed that the gingival crest and the connective tissue papillae. And it is observed the thick alveolar bone than the other groups, (B and B') LIP group, (C and C') LIP/Low group, (D and D') LIP/High group. (B and B') In the LIP group, it is not observed that the gingival crest and the connective tissue papillae. And it is observed that thick gingival epithelium. (C and C') In the LIP/Low group, it is observed that the gingival crest, but not the connective tissue papillae. And it is observed that thick gingival epithelium. (D and D') In the LIP/High group, it is observed that the gingival crest and the connective tissue papillae. AB, alveolar bone; Ep, epithelium of gingiva; P, connective tissue papillae; arrow, gingival crest.

구 결과를 비추어 보면 홍삼 추출물의 투여는 치주염 유발에 의한 치은 상피 및 결합조직의 염증성 변화를 억제하며 이러한 효과는 염증 관련인자를 조절하는 홍삼의 효능성과 매우 밀접한 연관이 있는 것을 드러낸다.

본 연구를 통해 치주염 유발에 의한 홍삼 추출물의 투여 시 치조골 및 치주조직의 변화를 살펴본 결과를 종합해보면, 홍삼 추출물의 투여는 구강에서 발생하는 염증성 질환인 치주염에서 치조골이 파괴 혹은 염증성 치주조직 변화 유발을 효과적으로 억제할 수 있는 소재로 고려될 수 있으며, 이와 같은 효과는 홍삼 추출물의 염증 관련인자에 대한 억제 기전과 밀접한 연관이 있는 것으로 사료된다. 다만, 본 연구는 홍삼 추출물을 이용한 치주염 억제 효과 연구로써 추후 유효 성분 및 직접적으로 작용하는 염증기전에 대한 생화학적 연구가 진행되어야 한다.

요 약

치주염에서 면역강화 및 항산화 작용 등의 효과가 있는 홍삼 추출물에 대한 효능 연구가 시도되고 있지만 세포실험 단계에 그치고 있다. 따라서 본 연구에서는 결찰로 유도한 치주염 실험동물 모델에서 홍삼 추출물이 치조골 파괴 억제에 효능이 있는지 확인하고자 하였다. 5주령 ICR 마우스의 상악 좌측 제2대구치를 6-0 봉합사를 이용하여 14일 동안 결찰을 유지하였다. 홍삼 추출물 원액을 200 mg/kg과 400 mg/kg의 용량으로 희석한 후 마이크로피펫을 이용하여 50 μ L씩 14일 동안 하루에 2번 구강 내에 투여하였다. 14일 후 마우스 상악을 적출하여 미세 단층 촬영 및 조직 염색을 통해 분석하였다. 그 결과 홍삼 추출물을 투여한 실험군에서 치조골 파괴가 감소된 것이 관찰되었으며, 치주염으로 인한

치은 상피가 회복된 것이 관찰되었다. 따라서 본 연구는 치주염 실험동물 모델에서 홍삼 추출물이 치조골 파괴를 억제할 뿐만 아니라 치은 상피의 회복에 효능이 있음을 시사하고 있다.

감사의 글

이 논문은 2019년도 강릉원주대학교 치과병원 협동임상연구비(CR1901) 지원에 의하여 수행되었으며, 논문에서 사용된 홍삼 추출물은 경희대학교 기술지주회사 한방바이오(주)에서 기증받아 사용함.

REFERENCES

- Abe T, Hajishengallis G. Optimization of the ligature-induced periodontitis model in mice. *J Immunol Methods*. 2013. 394: 49-54.
- Babiker LB, Gadkariem EA, Alashban RM, Aljohar HI. Investigation of stability of Korean ginseng in herbal drug product. *Am J Appl Sci*. 2014. 11:160-170.
- Boo YJ, Park JM, Kim J, Suh SO. Prospective study for Korean red ginseng extract as an immune modulator following a curative surgery in patients with advanced colon cancer. *J Ginseng Res*. 2007. 31:54-59.
- Brekhman II, Dardymov IV. New substances of plant origin which increase nonspecific resistance. *Annu Rev Pharmacol*. 1969. 9:419-430.
- Cho SO, Lim JW, Kim H. Red ginseng extract inhibits the expression of MCP-1 and iNOS in *Helicobacter pylori*-infected gastric epithelial cells by suppressing the activation of NADPH oxidase and Jak2/Stat3. *J Ethnopharmacol*. 2013. 150:761-764.
- Enhos S, Duran I, Erdem S, Buyukbas S. Relationship between iron-deficiency anemia and periodontal status in female pa-

- tients. J Periodontol. 2009. 80:1750-1755.
- Francetti L, Dellavia C, Corbella S, Cavalli N, Moscheni C, Canciani E, et al. Morphological and molecular characterization of human gingival tissue overlying multiple oral exostoses. Case Rep Dent. 2019. Article ID 3231759. <https://doi.org/10.1155/2019/3231759>
- Huq MA, Siddiqi MH, Kim YJ, Akter S, Yang DC. Stimulating effect of fermented ginseng leaf saponin on the differentiation and mineralization of murine osteoblastic MC3T3-E1 cells. Bangladesh J Sci Ind Res. 2019. 54:147-154.
- Iqbal H, Rhee DK. Ginseng alleviates microbial infections of the respiratory tract: a review. J Ginseng Res. 2020. 44:194-204.
- Ishida N, Ishihara Y, Ishida K, Tada H, Funaki-Kato Y, Hagiwara M, et al. Periodontitis induced by bacterial infection exacerbates features of Alzheimer's disease in transgenic mice. NPJ Aging Mech Dis. 2017. 3:15. <https://doi.org/10.1038/s41514-017-0015-x>
- Joo SS, Won TJ, Lee DI. Reciprocal activity of ginsenosides in the production of proinflammatory repertoire, and their potential roles in neuroprotection *in vitro*. Planta Med. 2005. 71:476-481.
- Jung CH, Seog HM, Choi IW, Choi HD, Cho HY. Effects of wild ginseng (*Panax ginseng* C.A. Meyer) leaves on lipid peroxidation levels and antioxidant enzyme activities in streptozotocin diabetic rats. J Ethnopharmacol. 2005. 98:245-250.
- Kang H, Lim JW, Kim H. Inhibitory effect of Korean red ginseng extract on DNA damage response and apoptosis in *Helicobacter pylori*-infected gastric epithelial cells. J Ginseng Res. 2020a. 44:79-85.
- Kang MH, Lee SJ, Lee MH. Bone remodeling effects of Korean red ginseng extracts for dental implant applications. J Ginseng Res. 2020b. 44:823-832.
- Kang SJ, Woo JH, Kim AJ. The effects of Korean ginseng on memory loss in a rat models. J Korean Soc Food Sci Nutr. 2013. 42:1190-1196.
- Kang SW, Park JH, Seok H, Park HJ, Chung JH, Kim CJ, et al. The effects of Korea red ginseng on inflammatory cytokines and apoptosis in rat model with chronic nonbacterial prostatitis. BioMed Res Int. 2019. Article ID 2462561. <https://doi.org/10.1155/2019/2462561>
- Kim DH, Kim DW, Jung BH, Lee JH, Lee H, Hwang GS, et al. Ginsenoside Rb2 suppresses the glutamate-mediated oxidative stress and neuronal cell death in HT22 cells. J Ginseng Res. 2019. 43:326-334.
- Kim HC. Effects of *Panax ginseng* and *Ziziphus jujuba* on stress-induced apoptosis in rats. Int J Oral Biol. 2008. 33:7-12.
- Kim HJ, Kim JY, Lee BH, Choi SH, Rhim H, Kim HC, et al. Gintonin, an exogenous ginseng-derived LPA receptor ligand, promotes corneal wound healing. J Vet Sci. 2017. 18:387-397.
- Kim J, Lee H, Kang KS, Chun KH, Hwang GS. Protective effect of Korean red ginseng against glucocorticoid-induced osteoporosis *in vitro* and *in vivo*. J Ginseng Res. 2015. 39:46-53.
- Kim JW, Jung BH, Lee JH, Yoo KY, Lee H, Kang MS, et al. Effect of *Weissella cibaria* on the reduction of periodontal tissue destruction in mice. J Periodontol. 2020. 91:1367-1374.
- Kim YJ, Lee OR, Lee S, Kim KT, Yang DC. Isolation and characterization of a theta glutathione S-transferase gene from *Panax ginseng* Meyer. J Ginseng Res. 2012. 36:449-460.
- Lee CS, Lee JH, Oh M, Choi KM, Jeong MR, Park JD, et al. Preventive effect of Korean red ginseng for acute respiratory illness: a randomized and double-blind clinical trial. J Korean Med Sci. 2012. 27:1472-1478.
- Lee DC, Lau AS. Effects of *Panax ginseng* on tumor necrosis factor- α -mediated inflammation: a mini-review. Molecules. 2011. 16:2802-2816.
- Lee HJ, Kim YK, Choi JH, Lee JH, Kim HJ, Seong MG, et al. Effects of red or black ginseng extract in a rat model of inflammatory temporomandibular joint pain. J Dent Hyg Sci. 2017. 17:65-72.
- Lee JH, Lee HJ, Yang M, Moon C, Kim JC, Bae CS, et al. Effect of Korean red ginseng on radiation-induced bone loss in C3H/HeN mice. J Ginseng Res. 2013. 37:435-441.
- Lee JM, Hah JO, Kim HS. The effect of red ginseng extract on inflammatory cytokines after chemotherapy in children. J Ginseng Res. 2012. 36:383-390.
- Leira Y, Iglesias-Rey R, Gómez-Lado N, Aguiar P, Campos F, D'Aiuto F, et al. *Porphyromonas gingivalis* lipopolysaccharide-induced periodontitis and serum amyloid-beta peptides. Arch Oral Biol. 2019. 99:120-125.
- Liu CX, Xio PG. Recent advances on ginseng research in China. J Ethnopharmacol. 1992. 36:27-38.
- Liu X, Wang Z, Song W, Sun W, Hong R, Pothukuchi A, et al. Systematically transplanted human gingiva-derived mesenchymal stem cells regulate lipid metabolism and inflammation in hyperlipidemic mice with periodontitis. Exp Ther Med. 2020. 19:672-682.
- Malhotra R, Kapoor A, Grover V, Grover D, Kaur A. Effect of scaling and root planing on erythrocyte count, hemoglobin and hematocrit in patients with chronic periodontal disease. J Dent Hyg. 2012. 86:195-203.
- Marchesan J, Gimmary MS, Jing L, Miao MZ, Zhang S, Sun L, et al. An experimental murine model to study periodontitis. Nat Protoc. 2018. 13:2247-2267.
- Nam KY. The comparative understanding between red ginseng and white ginsengs processed ginsengs (*Panax ginseng* C.A. Meyer). J Ginseng Res. 2005. 29:1-18.
- Oz HS, Puleo DA. Animal models for periodontal disease. J Biomed Biotechnol. 2011. Article ID 754857. <https://doi.org/10.1155/2011/754857>
- Page RC, Schroeder HE. Pathogenesis of inflammatory periodontal disease. A summary of current work. Lab Invest. 1976. 34:235-249.
- Pajoumshariati S, Yavari SK, Shokrgozar MA. Physical and biological modification of polycaprolactone electrospun nanofiber by *Panax ginseng* extract for bone tissue engineering application. Ann Biomed Eng. 2016. 44:1808-1820.
- Roshna T, Nandakumar K. Generalized aggressive periodontitis and its treatment options: case reports and review of the literature. Case Rep Med. 2012. Article ID 535321. <https://doi.org/10.1155/2012/535321>
- Rovin S, Costich ER, Gordon HA. The influence of bacteria and irritation in the initiation of periodontal disease in germfree and conventional rats. J Periodontol Res. 1966. 1:193-204.
- Saini R, Marawar PP, Shete S, Saini S. Periodontitis, a true infection. J Glob Infect Dis. 2009. 1:149-150.
- Socransky SS, Haffajee AD. Dental biofilms: difficult therapeutic targets. Periodontol 2000. 2002. 28:12-55.
- Teughels W, Dhondt R, Dekeyser C, Quirynen M. Treatment of aggressive periodontitis. Periodontol 2000. 2014. 65:107-133.
- Wang J, Li S, Fan Y, Chen Y, Liu D, Cheng H, et al. Anti-fatigue activity of the water-soluble polysaccharides isolated from *Panax ginseng* C.A. Meyer. J Ethnopharmacol. 2010. 130:421-423.
- Xiao E, Mattos M, Vieira GHA, Chen S, Corrêa JD, Wu Y, et al. Diabetes enhances IL-17 expression and alters the oral microbiome to increase its pathogenicity. Cell Host Microbe. 2017. 22:120-128.

- Yang M, Jang H, Lee HJ, Moon C, Kim JC, Jang JS, et al. Evaluation of effect of red ginseng on ovariectomy-induced bone loss in C3H/HeN mice. *J Biomed Res.* 2014. 15:12-18.
- Yun TK, Choi SY, Yun HY. Epidemiological study on cancer prevention by ginseng: are all kinds of cancers preventable by ginseng?. *J Korean Med Sci.* 2001. 16:S19-S27.
- Zhang D, Yasuda T, Yu Y, Zheng P, Kawabata T, Ma Y, et al. Ginseng extract scavenges hydroxyl radical and protects unsaturated fatty acids from decomposition caused by iron-mediated lipid peroxidation. *Free Radic Biol Med.* 1996. 20: 145-150.