

발간등록번호
안내서-1050-01

건강기능식품 기능성 평가 가이드

‘잇몸건강에 도움을 줄 수 있음’ 편

2020. 8.



식품의약품안전처
식품의약품안전평가원

이 안내서는 건강기능식품 기능성 원료 평가에 대하여 이해를 돕고자, 현재의 과학기술 수준에서 일반적인 사항과 시험방법 등이 제시된 참고자료이며, 질병에 관련된 내용이 포함되는 경우 기능성에 대한 전반적인 이해를 돕기 위한 것이지, 질병의 치료 및 예방을 목적으로 기능성을 설명하는 것은 아닙니다.

본 안내서는 대외적으로 법적 효력을 가지는 것이 아니므로 본문의 기술방식('~하여야 한다' 등)에도 불구하고 민원인 여러분께서 반드시 준수하셔야 하는 사항이 아님을 알려드립니다. 또한, 본 안내서는 2020년 8월 현재의 과학적·기술적 사실 및 유효한 법규를 토대로 작성되었으므로 이후 최신 개정 법규 내용 및 구체적인 사실관계 등에 따라 달리 적용될 수 있음을 알려드립니다.

※ "민원인 안내서"란 대내외적으로 법령 또는 고시·훈령·예규 등을 알기 쉽게 풀어서 설명하거나 특정한 사안에 대하여 식품의약품안전처의 입장을 기술하는 것(식품의약품안전처 지침서등의 관리에 관한 규정 제2조)

※ 본 안내서에 대한 의견이나 문의사항이 있을 경우 식품의약품안전평가원 식품위해평가부 영양기능연구과로 문의하시기 바랍니다.

전화번호: 043-719-4402, 4416, 4421, 4422, 4423, 4425, 4430

팩스번호: 043-719-4420

제·개정 이력

연번	제·개정번호	승인일자	주요내용
1	안내서-1050-01	2020.8.	제정
2			
3			

CONTENTS

※ 건강기능식품의 기능성 개요	1
※ 약어	3
I 서론	4
II 일반적 사항	4
1. 개요	4
2. 보건학적 중요성	11
III 기능성 시험 방법	13
1. 바이오마커의 선정	13
2. 주요 바이오마커의 측정 방법	23
3. 시험 설계 시 고려사항	28
IV 참고문헌	32

건강기능식품의 기능성 개요

□ 기능성 정의

「건강기능식품에 관한 법률」 제3조(정의) : 기능성이란 인체의 구조와 기능에 대하여 영양소를 조절하거나 생리학적 작용 등과 같은 보건용도에 유용한 효과를 얻는 것을 말한다.

□ 기능성 구분

건강기능식품의 기능성은 3가지로 구분할 수 있다.

○ 건강기능식품의 기능성 구분

기능성 구분	기능성 내용	기능성을 가진 원료 또는 성분
영양소 기능	인체의 정상적인 기능이나 생물학적 활동에 대한 영양소의 생리학적 작용	영양소
생리활성 기능	인체의 정상기능이나 생물학적 활동에 특별한 효과가 있어 건강상의 기여나 기능 향상 또는 건강유지·개선을 나타내는 기능	기능성 원료
질병발생 위험감소 기능	질병의 발생 또는 건강상태의 위험감소와 관련한 기능	

□ 건강기능식품 기능성 원료의 기능성 내용과 인정기준

건강기능식품 기능성 원료의 기능성 내용과 인정기준은 다음과 같다.

○ 건강기능식품 기능성 원료의 기능성 내용과 인정기준

구분	기능성 내용	인정기준
질병발생 위험 감소 기능 ¹⁾	○○발생위험 감소에 도움을 줌	기반연구 자료를 통해 생리학적인 효과 또는 기전이 명확하게 입증되어야 하고 일관성 있는 바이오마커의 개선효과가 다수의 인체적용시험(RCT)에서 확보되어야 함 ※ 질병 관련 바이오마커의 확인
생리활성 기능 ²⁾	○○에 도움을 줄 수 있음	기반연구 자료를 통해 가능성 있는 생리학적인 효과 또는 기전을 추측할 수 있어야 하고 일관성 있는 바이오마커의 개선효과가 최소 1건 이상의 인체적용시험(RCT)에서 확보되어야 함(추측 제안기전과 관련한 바이오마커가 기반연구시험과 인체적용시험에서 일관성 있게 확인되어야 함) ※ 생리활성 관련 바이오마커의 확인

- 1) 제출된 기능성 자료가 질병의 발생 위험 감소를 나타내며, 확보된 과학적 근거 자료의 수준이 상당한 과학적 합의(Significant Scientific Agreement)에 이를 수 있을 정도로 높을 경우 인정. 상당한 과학적 합의(Significant Scientific Agreement)란 성분 또는 원료와 건강효과 간의 상관성이 새로운 과학에 의해 뒤집어지지 않을 정도의 수준으로 관련 분야의 전문가들에 의한 만장일치에 가까운 합의 수준을 말함
- 2) 제출된 기능성 자료가 인체의 정상기능이나 생물학적 활동에 특별한 효과가 있어 건강상의 기여나 기능 향상 또는 건강유자개선을 나타내는 경우 인정

약 어

Aa	Actinobacillus actinomycetemcomitans
ABL	alveolar bone loss
ALP	alkaline phosphatase
AP-1	activator protein-1
AST	Aspartate aminotransferase
BOP	bleeding on probing
CAL	Clinical attachment level
CTX	C-telopeptide
DPPH	1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl
EA	Elastase
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay
GCF	Gingival crevicular fluid
GI	gingival index
GM-CSF	granulocyte-macrophage colony stimulating factor
IL	interleukin
LPS	lipopolysaccharide
MMP	matrix metalloproteinase
MTT	3-(4,5-dimethylthiazol)-2-yl-2,5-diphenyltetrazolium bromide
NF- κ B	nuclear factor-kappa B
OPG	osteoprotegerin
ORAC	Oxygen radical absorbance capacity
PD	probing pocket depth
PDL	periodontal ligament
PI	plaque index
RANKL	receptor activator of nuclear factor- κ B ligand
ROS	reactive oxygen species
TIMP	tissue inhibitor of metalloproteinase
TNF	tumor necrosis factor
TRAP	tartrate-resistant acid phosphatase
VAS	visual analogue scale

I

서론

이 가이드라인은 건강기능식품 기능성원료를 개발하는 연구자 및 영업자에게 식품의약품 안전처의 기능성(잇몸건강에 도움을 줄 수 있음) 평가 원칙 및 기준 등을 알림으로써 산업체의 기능성원료 연구개발에 적정을 기하고 효율성을 높이고자 작성되었다.

II

일반적 사항

1. 개요

가. 치아와 잇몸의 구조

잇몸(치은)으로부터 돌출된 치아 부분을 치관, 잇몸선 아랫부분을 치근이라고 한다. 치관은 인체에서 가장 단단한 물질인 법랑질(사기질)의 보호층으로 덮여있다. 표면이 매끈하여 외부의 모든 자극으로부터 치아를 보호한다. 법랑질은 마모되어 닳아지며 음식물에 있는 산이나 플라그에 있는 세균에 의해 손상된다.

잇몸은 치아와 입안이 연결되는 경계부에 있는 연조직으로 잇몸과 치아 사이에 음식물 찌꺼기와 세균이 쌓이게 되면 치은염이 생기고 치은염이 진행되면 치주염으로 발전하게 되고 심한 경우 발치에 이르게 된다.

법랑질 아래에는 단단한 상아질이 존재한다. 그 아래층의 치수강에는 작은 통로 등이 있어 상아질까지 이어지는 혈관과 신경이 존재한다. 때문에 상아질은 온냉이나 통각에 반응한다. 치아와 잇몸 사이에는 치은열구(치은낭)라는 벌어진 틈이 있는데, 잇몸병이 발생하는 원인 부위이다.

치아의 2/3는 치근으로 구성되어 있으며 각 치근은 치주 인대에 의해 턱뼈에 붙어 있다. 치주 인대는 치아와 치조골 사이의 공간을 채우는 연조직으로, 치아가 음식을 씹는 동안 치조와 내에 있는 치근이 충격을 흡수하도록 한다. 치조골은 흔히 잇몸뼈라고 하며 치아를 단단히 붙여주는 뼈이다. 치조골은 치아를 단단하게 잡아 흔들리지 않게 해주는 역할을 하는데, 치아가 발치되어 없으면 치조골도 점점 소실되어 줄어들게 된다. 백악질은 치조골과 치아를 연결해주는 섬유인 치주인대가 치아에 붙을 수 있도록 접착제 같은 역할을 한다.

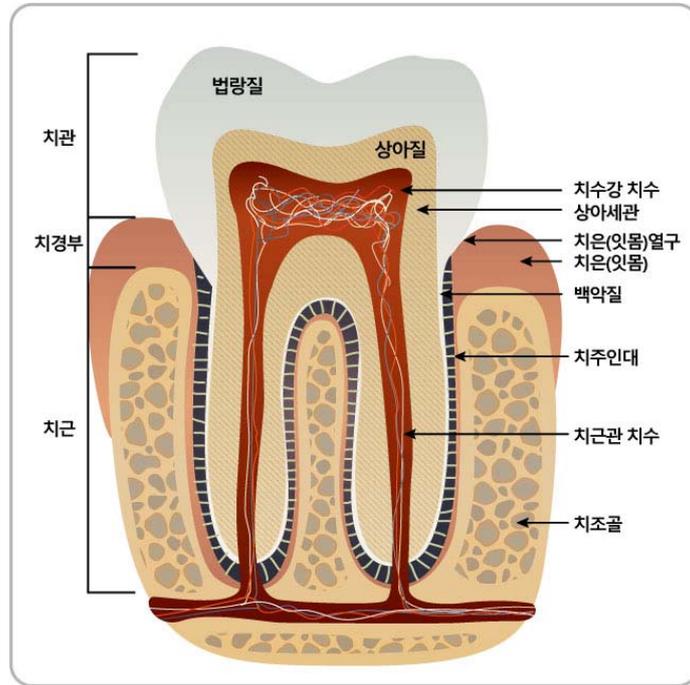


그림 1. 치아와 잇몸의 구조
[출처 ; Newton 2017(6월호)]

나. 잇몸의 역할

턱뼈의 치아를 지지하는 뼈와 치주인대는 잇몸으로 덮여있다. 건강한 잇몸은 분홍색이며 단단하다. 잇몸은 치아의 목 부위를 단단히 밀봉하고 있어 음식물 찌꺼기나 플라그가 하부 조직과 치근으로 침투하는 것을 막아준다.

다. 잇몸질환

잇몸은 각 치아의 하부를 둘러싸고 있는 턱뼈 일부분을 덮는 보호조직의 한 층이다. 건강한 잇몸은 치관 주위를 단단히 밀봉하여 세균 침입으로부터 조직을 보호한다. 잇몸이 손상되면 치아는 지지를 받지 못해 흔들리게 된다. 대부분의 잇몸 질환은 구강위생을 청결히 함으로써 예방할 수 있다.

대부분의 성인은 잇몸 질환을 어느 정도 갖고 있다. 이를 치료하지 않고 그냥 방치한다면 치아를 잃게 될 수 있다. 잇몸질환을 예방하기 위해 구강위생을 청결히 하는 것은 필수적이다.

치아를 제대로 닦지 않으면 치아 표면에 플라그(plaque: 치태, biofilm)가 침착된다. 이 플라그를 제거하지 않으면 잇몸에 염증이 생기게 된다. 더 심한 경우에는 치주 조직에 염증이 생겨 치아로부터 분리되므로 치아가 흔들려 빠지게 된다. 또는 잇몸이 퇴축되어 뿌리가 노출되고 치아가 썩게 된다.

(1) 잇몸염증(치은염)

잇몸병으로 알려진 잇몸 염증은 불량한 구강위생으로 인해 잇몸에 생긴 염증으로, 성인 10명 중 9명에서 발생하는 아주 흔한 질환이다. 정상적인 핑크빛 대신 잇몸이 자줏빛을 띠며 부드럽고 빛이 나고, 특히 칫솔질 할 때 쉽게 피가 난다. 이런 상황은 대개 잇몸이 치아 하부와 만나는 곳에 플라그가 축적되어 발생한다. 잇몸 염증이 갑자기 발병한 경우를 급성 괴사성 궤양성 치은염이라고 하며, 대개 십대와 젊은 성인에서 발병한다. 발병 원인은 때때로 만성 치은염이나 구강에 무해한 세균의 비정상적인 성장이 원인이 되기도 한다. 급성 괴사성 궤양성 치은염은 스트레스를 받거나 지쳐있거나 후천성 면역결핍 증후군에 걸린 사람에게서 흔하게 나타난다.

(2) 치주염

치주염은 치아를 지지하는 치주 조직의 염증으로, 55세 이상의 사람들이 많이 걸리며 치아가 손실되는 주된 원인이다. 치아를 치조와에 고정시키는 치주 조직에 염증이 생겨 치아가 느슨해져 결국 빠지게 된다. 치주염으로 인한 손상은 비가역적이지만 적절히 치료하고 구강위생을 철저히 하면 더 이상의 염증은 예방할 수 있다. 치주염을 치료하지 않고 방치하면 심혈관 질환에 걸리기 쉽다.



그림 2. 잇몸질환의 진행과정

[출처: 치아맨 구강건강 총치와 잇몸병, 2014]

라. 잇몸질환 발생 기전

(1) 활성산소

치주질환의 원인 또는 진행 과정 중 발생하는 활성산소는 치주조직을 손상시켜 치주질환을 유발하거나 진행 중인 치주질환을 악화시키는 작용을 한다. 유해산소로 알려진 활성산소는 가장 안정한 형태인 삼중항산소($3O_2$)가 환원되면서, superoxide radical(O_2^-), 과산화수소(H_2O_2), 하이드록시기(-OH), 지질 과산화물(ROOH), 여기에서 생기는 유리기(free radical; ROO-, RO-) 등의 과산화지질을 형성하므로, 이러한 활성산소의 과산화지질이 정상적으로 소거되지 않았을 때, 유리기로 인한 산화적 스트레스가 생체 내에 가해지면 이들 활성산소는 세포구성 성분인 인지질, 단백질, 당, DNA 등에 대하여 비선택적, 비가역적인 파괴작용을 나타냄으로써 치주질환을 일으킨다. 따라서, 항산화 작용을 통한 산화적 스트레스 억제효과를 측정하여 잇몸건강 개선의 작용기전을 확인할 수 있다.

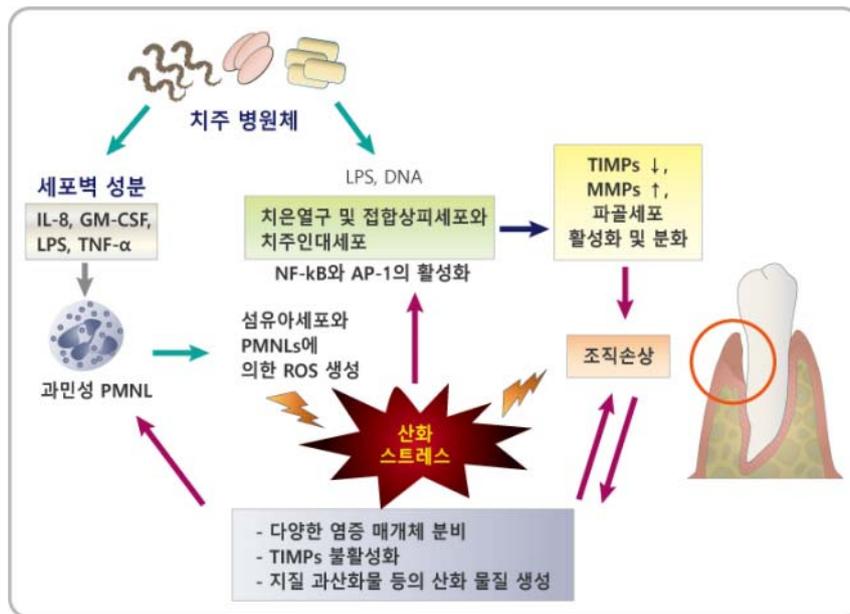


그림 3. 잇몸질환과 항산화

[출처: Periodontology 2000. 2007;43(1):160-232]

(2) 사이토카인

구강 세균 중 대표적인 치주질환 병원균(periodontal pathogens)에는 *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola*, *Prevotella intermedia*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* 등이 있는데, 이들 미생물이 형성하는 lipopolysaccharides (LPS) 내 독소 혹은 대사산물은

조직과 면역세포에서부터 전염증성 사이토카인(proinflammatory cytokine)의 분비를 증가시킨다. 특히, IL-1 β 와 TNF- α 는 조직파괴에 관여하는 대표적인 사이토카인으로, IL-1 β 는 염증세포의 recruitment, 다형핵백혈구(polymorphonuclear leukocyte)의 priming/degranulation 활성화, prostaglandin과 같은 염증성 매개체와 matrix metalloproteinases (MMP)의 생성 증가, 콜라겐 합성 저해, T와 B 림프구 활성을 유발하며, TNF- α 는 세포 apoptosis, 골 흡수, MMP 분비, intercellular adhesion molecule (ICAM) 발현 및 IL-6생성을 증가시킨다. 또한, IL-6는 파골세포 형성 및 골 흡수, T 림프구 분화를 촉진함으로써 조직 파괴 과정에 관여한다.

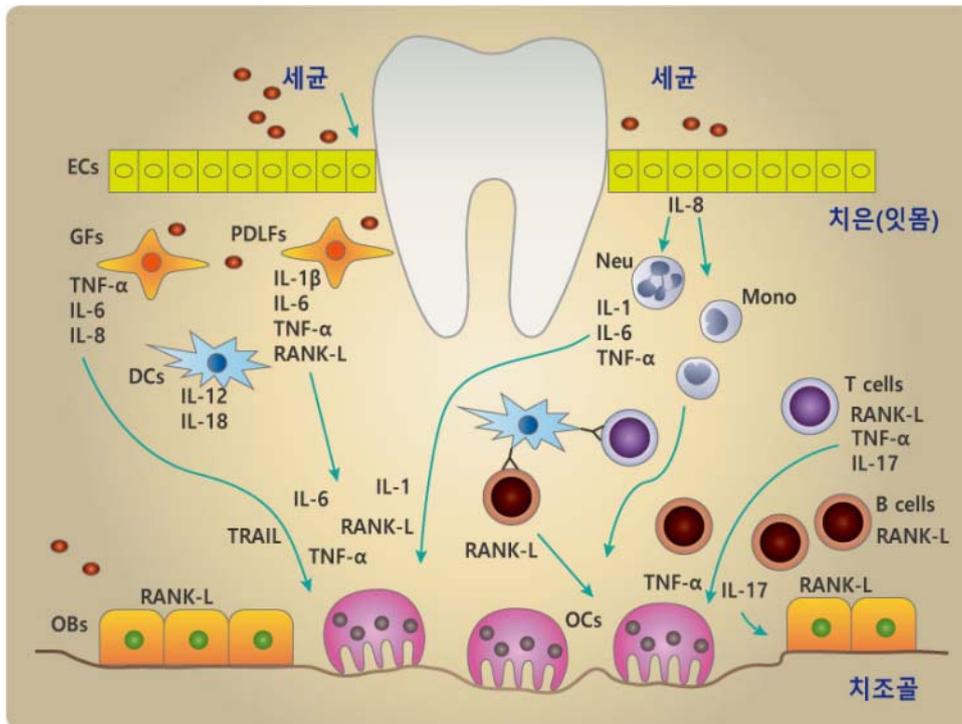


그림 4. 잇몸질환과 사이토카인

[출처: Journal of Immunology Research, 2013]

반대로, interleukin-4(IL-4), interleukin-10(IL-10), interleukin-1receptor antagonist (IL-1ra) 등의 비염증성 사이토카인과 tissue inhibitors of matrix metalloproteinases (TIMPs)의 생산이 증가되면 건강한 치주 상태를 유지하게 된다.

(3) 구강 내 세균

치주질환을 일으키는 주요한 원인은 구강 내 존재하는 세균으로, 치태 내에 존재하는 수 종의 세균군에 의한 혼합감염으로 치주조직의 반응에 따른 염증진행에 의하여 치주질환이

발생된다. 이러한 세균 중 특히 red complex에 속하는 *Porphyromonas gingivalis*가 치주질환의 가장 중요한 원인균으로 알려져 있다. *P. gingivalis*는 그람 음성 혐기성 세균으로 치주질환자의 병소에서 그 수가 증가되며 치주질환이 진행됨에 따라 열구상피에 침투하는 *P. gingivalis*가 종종 발견된다. *P. gingivalis*는 숙주조직과 세포에 부착 또는 침투하는 과정에서 대사산물 또는 독소를 만들어 치주 조직에 직접 해를 미치기도 하지만 *P. gingivalis*와 반응하는 세포에서 생산되는 사이토카인(cytokine), 그리고 사이토카인에 반응하는 숙주세포에서 생산된 물질이 치주 조직을 더욱 파괴시킨다.

(4) 치주 조직 및 구조변화

치주질환은 질병의 진행시 치아 지지구조의 파괴와 변화를 일으키고, 치주조직이 파괴, 변성되면 치주조직의 기능에도 영향을 미쳐 저작활동에 장애가 될 수 있다. 치아의 구성조직으로는 법랑질, 백악질, 상아질, 치수 등 4개의 조직으로 구성되어 있으며 이중 법랑질, 상아질, 백악질은 경조직에 속하고, 치수는 연조직에 해당된다.

(가) 연조직

연조직은 치아 주위의 치은이 구강 내의 많은 병원성 미생물의 공격으로부터 하부의 다른 치주조직을 보호하듯이 하부의 골유착 부위를 보호한다. 치주질환자의 경우 일부 특정 세균에 의해 염증 반응 등이 유도되면 비활성형의 콜라게나제(collagenase)를 활성화시키거나 콜라게나제와 다른 매트릭스 메탈로프로테나제(matrix metalloproteinase, MMPs)의 분비를 자극하는 등의 반응이 일어난다. 매트릭스 메탈로프로테나제는 다형핵백혈구, 대식 세포, 치은섬유아세포, 골세포와 같은 다양한 세포로부터 분비되는 칼슘 및 아연 의존 펩티다제로 중성의 pH에서 작용하며, 기질로서는 다양한 세포의 기질을 이용한다. 이들 효소의 생성 기작을 살펴보면 박테로이드(*Bacteroids*), 악티노바실러스(*Actinobacillus*)와 같은 혐기성 그람 음성균의 세포벽 구성성분인 지질다당류(Lipopolysaccharide, LPS)와 같은 내독소에 의하여 직접 조직이 파괴되거나, 생체 면역계를 자극하여 면역계의 여러 작용에 의하여 세포 외부로 분비된 활성산소, 프로스타글란딘(Prostaglandins), 인터루킨(Interleukins)과 같은 여러 종류의 사이토카인 등에 의해 잇몸염증이 유발되고, 이들 염증매개체의 자극에 의하여 분비된 콜라게나제 및 세균으로부터 분비된 콜라게나제에 의하여 치주 조직의 기질인 콜라겐(collagen)이 분해되어 잇몸 퇴축이 일어나고, 계속 방치하게 되면 치주질환으로 진행된다. 이는 치주 조직의 질환뿐만 아니라 일상적인 치주 조직의 재생, 발달 등에 기여하여 이를 파괴하는 것으로 알려져 있으며 이러한 역할을 하는 효소 중 대표적인 것이 매트릭스 메탈로프로테나제-1(MMP-1)과 매트릭스 메탈로프로테나제-8(MMP-8)로서, 치주질환에서 세포 외 기질 분해 즉, 치주조직의 콜라겐을 분해하여 약화시키는 작용을 한다. 매트릭스 메탈로프로테나제-1은

교원조직(connective tissue)의 재생을 조절하고 염증성 치주질환이 있는 부위에 특히 높은 농도로 존재한다. 이러한 부위의 콜라겐 분해를 막기 위해 MMPs를 억제하는 것은 치주질환을 예방하는데 매우 중요하다.

반면에, TIMP(tissue inhibitor of metalloproteinase)는 MMP 활성을 조절하며, 4종의 TIMP가 알려져 있다. 이들 중 TIMP-1은 섬유아세포에서 유래된 MMP에 대해 강력한 억제 효과를 발휘하며, TIMP-2는 다형핵 백혈구에서 유래된 MMP에 강력한 억제 효과를 보인다. TIMP-1은 치은열구액과 치은조직 내에 존재하는 MMP에 대한 주된 억제제로서, 염증 부위에서의 치은열구액 내에 TIMP-1 단백질이 증가되어 있으며, 치주염 이환 치은 조직 내에 MMP-1과 TIMP-1 mRNA가 증가된다.

(나) 경조직

경조직은 치아의 가장 바깥층으로 치관의 표면을 덮고 있는 법랑질, 법랑질 안쪽 노란 조직인 상아질과 치근(치아 뿌리)의 표면을 덮고 있는 백악질이 있다. 백악질은 치아를 치조골에 고정시키는 역할을 한다. 상아질은 법랑질보다는 부드럽고 탄력성이 있어서 법랑질을 지지하고 깨지는 것을 방지하는 역할을 한다. 법랑질은 치아를 온도(차가움, 뜨거움), 압력, 충격으로부터 보호하는 역할을 한다. 치아 경조직 손상은 치아 표면조직의 결손(Loss)을 말하는 것으로 보통 나이가 들어감에 따라 일어나는 정상적이고 생리적인 과정이다. 그러나 파괴의 정도가 심해 치아의 기능적, 심미적 장애를 일으키거나 지각과민 상태를 유발하면 병적인 상태로 간주한다.

뼈를 구성하는 주요한 비콜라겐 단백질인 오스테오칼신(osteocalcin)은 프로트롬빈 내에서 발견된 γ -카르복시글루탐산(Gla)을 포함하는 골격의 산성단백질로 조골세포(osteoblast)와 상아아세포(odontoblast)에서만 생성되며 혈장 내 오스테오칼신 농도는 골아세포의 활성을 반영한다고 보고 있다. Receptor activator of nuclear factor- κ B ligand(RANKL)은 파골세포의 TRAP 발현, 융합과 활성화를 유도하는 주요한 파골세포 분화 유도인자이며 파골세포 전구세포와 파골세포는 RANKL에 대한 수용체인 RANK를 발현한다. RANKL은 조골세포 계열의 세포나 면역세포에서 생성되며, 파골전구세포와 파골세포에 발현되는 수용체인 RANK(Receptor activator of nuclear factor- κ B)를 자극함으로써 파골전구세포의 분화를 촉진하고 파골세포의 세포자연사(apoptosis)를 억제한다. 한편 RANKL은 수용성 수용체인 osteoprotegerin(OPG)과도 결합할 수 있으며, 이런 경우에는 RANKL-RANK의 결합이 억제되어 파골세포의 생성과 활성이 억제된다. Osteoprotegerin(OPG)은 골모세포가 분비하는 표면단백질이며 RANK에 경쟁적으로 반응하여 RANKL이 전파골세포와 결합하지 못하게 차단하여 파골세포 분화(osteoclastogenesis)를 억제한다.

2. 보건학적 중요성

치아를 발거하게 되는 원인은 치아 우식, 치주질환 및 외상 등 다양하지만, 성인에서 치아를 발거하게 되는 주된 원인은 치주질환이다. 치은염 및 치주질환은 올바른 칫솔질과 정기적인 치과 검진 및 치주치료로 효과적으로 예방하고 치료할 수 있다. 또, 치주질환이란 세균에 의해 치아주위 잇몸에 발생하는 염증성 질환으로, 심한 경우 치조골 소실을 일으키며 적절한 시기에 치료가 이루어지지 않으면 치아를 발거하게 되는 질환이다.

건강보험심사평가원의 ‘2017년 진료비 통계 지표’에 의하면 치주질환으로 병원을 찾은 환자는 2013년 1,027만 9,251명에서 2017년 1,518만 6,583명으로 약 67.7% 증가했다. 연령별로 보면 40~50대가 전체 환자 수의 약 41%를 차지해 가장 많다. 하지만, 20~30대 환자 역시 2013년 276만 5,919명에서 2017년 431만 7,377명으로 64% 가량 증가하였다 (그림 5).



그림 5. 치주질환 환자수의 증가추이

[출처: 건강보험심사평가원, 2017년 건강보험통계연보, 2018]

치주질환은 65세 노인 다발생 질병순위에서 전체 질환 중 2위에 해당하는데, 1위인 급성 기관지염이나 4위인 급성 편도염 등이 감기와 관련된 것을 고려하면, 치주질환이 대다수 성인이 가장 많이 갖고 있는 만성질환임을 알 수 있다(그림 6). 또한, 최근 여러 연구를 통해 치주질환이 심혈관질환, 고혈압, 만성폐쇄성 폐 질환, 뇌졸중, 비만, 당뇨, 조산, 저체중아 출산, 류마티스 관절염, 발기부전 및 치매와 같은 여러 가지 전신질환에 직·간접적인 영향을

준다는 것이 발표되고 있다. 따라서 치주질환을 조기에 발견해서 효과적으로 치료하는 것이 치주 건강뿐 아니라 전신 건강을 유지하는 데 매우 중요하다.

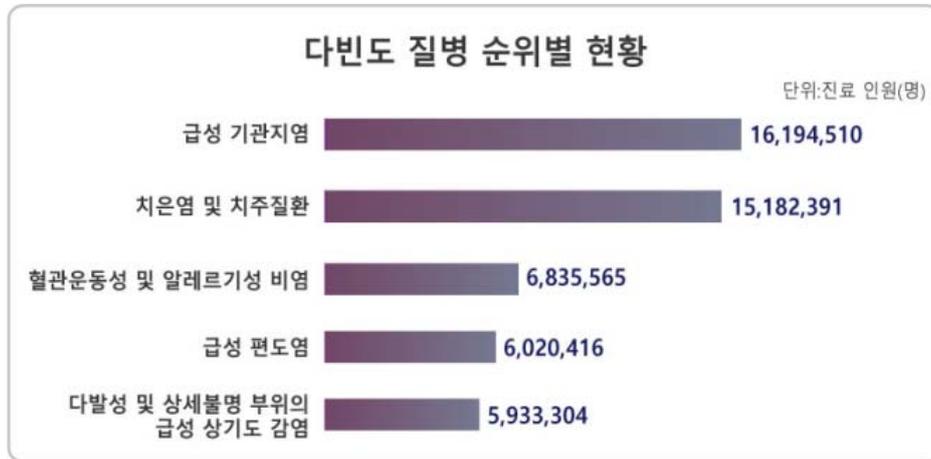


그림 6. 65세 이상 노인 다발성 질병 순위

[출처: 건강보험심사평가원, 2017년 건강보험통계연보, 2018]

Ⅲ 기능성 시험 방법

1. 바이오마커의 선정

가. 연구유형별 바이오마커

잇몸건강 기능성을 확인하기 위한 시험관시험, 동물시험 및 인체적용시험의 바이오마커는 아래의 표 1을 참고할 수 있다.

표 1. 잇몸건강 기능성 확인을 위한 바이오마커

구 분	바이오마커	측정 가능한 연구유형			
		<i>in vitro</i>	<i>in vivo</i>	Human	
항산화	항산화 효소 활성(SOD, CAT, GPx 등)	○	○	○	
	라디칼 소거능(DPPH, ORAC)	○	○	○	
	DNA damage(Comet assay, 8-OH-dG 등)	○	○	○	
항염증	IL-1 β	○	○	○	
	IL-6	○	○	○	
	TNF- α	○	○	○	
	hs-CRP	○	○	○	
	Prostaglandins	○	○	○	
항균	Red complex (<i>P.gingivalis</i> , <i>T.denticola</i> , <i>T. forsythia</i>)	○	○	○	
	Orange complex (<i>C. gracilis</i> , <i>C. rectus</i> , <i>F.nucleatum</i> , <i>P. micra</i> , <i>P. intermedia</i> , <i>P. nigrescens</i>)	○	○	○	
	Green complex (<i>A. actinomycetemcomitans</i> , <i>E. corrodens</i>)	○	○	○	
치주 조직 및 구조 변화	연 조 직	MMPs(MMP-3,8,9,13)	○	○	○
		TIMP-1	○	○	○
	경 조 직	Osteocalcin		○	○
		RANKL	○	○	○
		Osteoprotegerin(OPG)		○	○
		C-telopeptide(CTX)		○	○
		Alkaline phosphatase(ALP)		○	○

구 분	바이오마커	측정 가능한 연구유형		
		<i>in vitro</i>	<i>in vivo</i>	Human
임상적 증상	치은지수(GI, gingival index)			○
	치태지수(PI, plaque index)			○
	임상부착수준(CAL, clinical attachment level)			○
	치은출혈지수(BOP, Bleeding on Probing)			○
	치주낭 탐침깊이(PD, probing depth)			○
	100mm VAS(Visual Analogue Scale)			○
	치은퇴축(Gingival recession)			○
	치조골 소실			○

나. 바이오마커 설명

잇몸건강 관련 바이오마커는 생리학적 작용 또는 과정을 설명하는 기전 관련 바이오마커인 항산화, 항염증, 항균, 치주 조직 및 구조변화 관련 마커와 기능성 평가 관련 바이오마커인 임상적 증상 관련 바이오마커로 구분되어 있다.

(1) 항산화

활성산소는 치주 조직을 손상시켜 치주질환을 유발하거나 진행 중인 치주질환을 악화시키는 작용을 한다. 따라서, 항산화 작용을 통한 산화적 스트레스 억제 효과를 측정하여 잇몸건강 개선의 작용기전을 확인할 수 있다.

(가) 항산화 효소 활성(SOD, CAT, GPx 등)

① Superoxide Dismutase(SOD)

SOD는 superoxide radical($O_2^{\bullet-}$)로부터 H_2O_2 와 O_2 형성을 촉매하는 효소로 활성산소에 의한 세포 손상에 대응하는 첫 번째 방어 라인을 구성한다.

② Catalase

Catalase는 H_2O_2 를 사용하여 다른 물질을 산화함으로써 세포 내에서의 H_2O_2 축적을 방지하도록 도와준다.

③ Glutathione peroxidase(GPx)

GPx는 과산화수소를 환원시켜 물을 만드는 반응을 촉매함으로써 세포 내에서 H₂O₂의 축적을 방지하도록 도와준다. 또한 지질과산화물 등의 유기 과산화물(organic peroxide)을 알코올(ROH)로 전환시킨다.

(나) 라디칼 소거능

① DPPH(1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl)

DPPH법은 안정한 free radical인 DPPH를 이용하여 라디칼이 감소하는 정도를 분광광도계로 측정하여 간접적으로 시료의 항산화 활성을 측정하는 방법이다.

② ORAC(Oxygen radical absorbance capacity)

ORAC는 세포막에 손상을 주는 ROS의 소거능을 수치화하여 항산화 능력을 평가하는 방법이다. ORAC 수치가 높을수록 활성산소 흡수 능력(항산화능)이 높다는 뜻이다.

(다) DNA damage

① Comet assay

개개의 세포 수준에서 DNA 손상을 눈으로 직접 확인할 수 있는 방법이다. 전기영동 후 EtBr로 염색하여 형광현미경으로 관찰하면, DNA 손상을 입은 세포는 tail이 나타나게 되고, tail의 길이 및 tail의 형광의 강도를 측정하여 DNA 손상을 정량화할 수 있다.

② 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine(8-OH-dG)

DNA를 구성하는 염기 중 guanine 분자의 8번째 위치에 있는 수산화기의 산화가 일어나 8-OH-dG가 생성된다. 따라서 8-OH-dG의 정량적 측정은 활성 산화물에 의한 체내 DNA의 손상 정도를 평가하는 지표로 이용될 수 있다.

(2) 항염증

치주질환은 치태 내 미생물에 의해 야기된 치주 조직의 염증성 질환으로 치아 주위조직의 파괴와 부착소실을 특징으로 한다. 치주 파괴와 안정 사이의 균형은 여러 요소들에 의해 좌우되며 그 중 interleukin-1(IL-1), interleukin-6(IL-6), tumor necrosis factor- α (TNF- α) 등의 염증성 사이토카인과 prostaglandin E2(PGE2), MMP의 생산이 증가되면 치주 파괴가 일어나고 interleukin-4(IL-4), interleukin-10(IL-10), interleukin-1 receptor antagonist

(IL-1Ra) 등의 비염증성 사이토카인과 tissue inhibitors of matrix metalloproteinases (TIMPs)의 생산이 증가하면 건강한 치주 상태를 유지하게 된다.

(가) IL-1 β

IL-1 β 는 염증 반응의 조절에 중요한 역할을 하며 치주부착 상실, 교원질의 파괴, 치조골 흡수 등 치주파괴와 직접적으로 관련이 있다. IL-1 β 는 치주질환을 가진 환자에서 그 양이 높게 나타나고 치주치료 후 현저히 감소한다.

(나) IL-6

IL-6는 다기능성 사이토카인으로 염증반응, 숙주 반응과 조직손상에 관련되며 IL-1, TNF- α 와 같은 염증성 자극에 반응하여 다량 분비된다. IL-6는 B 세포의 분화와 T 세포의 증식, 조혈과 신경 분화를 자극하는 것으로 알려져 있다. 그리고 파골세포 분화를 촉진시켜 골 흡수와 골 생성의 방해에 관여하며, 치주질환 분야에서는 골 소실과 관련하여 주목을 받고 있다.

(다) TNF- α

TNF- α 는 혈관내피세포의 부착 분자 발현을 유도하여 혈관 내 호중구, 단구와 림프구의 혈관 밖 이동을 유도하는 염증 유도 사이토카인으로 collagenase와 PGE2의 생산을 상향 조절하고 단백분해효소 관련 기전을 통해 치주 조직의 부착손실을 야기하는 것으로 알려져 있다. TNF- α 는 파골세포 분화에도 관여한다.

(라) hs-CRP

염증성 마커로 알려진 C-반응 단백질(C-reactive protein, CRP)은 주로 IL-6에 의하여 간에서 생산되는 급성기 단백질로서 알려져 있을 뿐만 아니라 혈청 농도는 염증 반응의 정도를 반영하는 주요 바이오마커로써 죽상경화증과 같은 심혈 질환의 예측에 사용되고 있다. 전통적인 CRP는 감염이나 염증성 질환의 선별검사로 이용되었으나 1990년대 이후에 측정 민감도가 우수한 high-sensitivity CRP (hs-CRP)가 개발되어 건강인에서 심혈관질환의 위험을 예측할 수 있게 되었고 2003년에 미국 질병통제예방센터/미국심장협회(Centers for Disease Control and Prevention/American Heart Association, CDC/AHA)에서는 hs-CRP를 심혈관 질환의 위험도 평가 및 예후를 추정하는 지표로 사용할 것을 권고하였다. 최근에는 치주질환이 심혈관계 질환의 위험요인으로 보고되고 있으며, 치주질환 치료 후에는 hs-CRP가 감소하는 것으로 알려져 있다.

(마) Prostaglandin

Prostaglandin은 생체 내 다양한 조직에서 만들어지며 염증 반응 뿐만 아니라 혈액응고, 면역반응, 신장기능, 위장관 보호, 신경조직의 성장과 발달 및 골조직의 대사 등에 관여하는 것으로 알려져 있다. 최근에 치주질환 진행과 심도를 알 수 있는 중요한 표식자 중 하나로 여겨지고 있는데 치주질환 환자의 치은 열구액내 PGE₂ level은 치주질환이 없는 정상인에 비하여 현저히 높게 나타나며 염증성 치은 조직에서 그 발현이 증가하는 것으로 알려져 있다.

(3) 항균

타액 내에는 약 500종 이상의 세균이 존재하는데 이들 대부분의 세균은 구강 상주균으로서 정상 구강점막에 항원을 제공하며 구강의 면역기능을 높이고 병원균의 침입 및 정착을 방해함으로써 구강의 항상성과 건강을 유지하는 중요한 역할을 한다. 그러나 이 중 특정 미생물 군이 증식하면 구강 내 치주질환이 발생하게 된다. 치주질환을 예방하거나 치주질환의 진행을 억제하기 위해서는 치태, 즉 세균을 제거하는 것이 필수적이다. Dr. Socransky 등은 치주질환을 일으키는 원인 세균들의 특징, 상호 연관성, 염색반응, 집락의 형태 및 색소의 생성 유무 및 임상적 지표 등을 기준으로 적색균(Red complex), 주황색균(Orange complex), 녹색균(Green complex), 황색균(Yellow complex), 자색균(Purple complex)의 5개 색깔 별로 분류하였다. 이 중에서 적색균은 치주질환의 주된 원인균이며, *Porphyromonas gingivalis*(*P. gingivalis*), *Treponema denticola*(*T. denticola*), 그리고 *Tannerella forsythia*(*T. forsythia*)로 이루어져 있고, 그 다음 주황색균이 두 번째로 중요한 원인균으로, 그리고 황색균, 녹색균, 자색균은 치주질환에 심각한 영향을 미치지 않는 균으로 분류하였다.

(가) Red complex

치주질환과 관련성이 있는 치은연하의 세균 중 *P. gingivalis*, *T. forsythia*, *T. denticola*를 Red complex라 하였으며, 이 complex는 치주낭 깊이와 탐침 시 출혈과 같은 치주질환 지표와 강한 상관관계를 가진다고 알려져 있다.

(나) Orange complex

Orange complex에 해당하는 균주 그룹은 성인에서 발생하는 치주염의 주요 병인으로 알려져 있다. Orange complex에는 *Campylobacter gracilis*(*C. gracilis*), *Campylobacter rectus*(*C. rectus*), *Fusobacterium nucleatum*(*F. nucleatum*), *Parvimonas micra*(*P. micra*), *Prevotella intermedia*(*P. intermedia*), *Prevotella nigrescens*(*P. nigrescens*)로 분류된다.

(다) Green complex

Green complex는 초기에 집락을 이루는 균으로 *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (*A. actinomycetemcomitans*), *Eikenella corrodens*(*E. corrodens*)로 분류되고 있으며, orange complex와 관련이 있는 것으로 알려져 있다.

(4) 치주조직 및 구조변화

치주질환은 매우 흔한 질병이며, 질병의 진행 시 치아 지지구조의 파괴와 변화를 일으키고, 치주조직이 파괴, 변성되면 치주조직의 기능에도 영향을 미쳐 저작활동에 장애가 될 수 있다. 치아의 구성조직으로는 법랑질, 백악질, 상아질, 치수 등 4개의 조직으로 구성되어 있으며 이중 법랑질, 상아질, 백악질은 경조직에 속하고, 치수는 연조직에 해당된다.

(가) 연조직

연조직은 치아 주위의 치은이 구강 내의 많은 병원성 미생물의 공격으로부터 하부의 다른 치주조직을 보호하듯이 하부의 골유착 부위를 보호한다.

① MMPs(MMP-3, 8, 9, 13)

MMP(Matrix metalloproteinase)효소는 치주 질환에 발생하는 잇몸의 결합조직을 파괴하는 효소이다. MMP계 효소는 아연을 함유한 엔도펩티다아제로서 결합조직 및 기저막의 분해에 관여하는 효소의 군이다. 이 효소들은 Extracellular matrix (ECM)를 분해하는 효소로 현재까지 17가지 이상의 MMP가 알려져 있다. MMP계 효소는 collagenases(MMP-1, MMP-8, MMP-13)와 gelatinases(MMP-2, MMP-9), Stromelysins(MMP-3, MMP-10, MMP-11)와 membrane type MMP(MMP-14, MMP-15, MMP-16, MMP-17)등으로 크게 나누어지며, Stromelysins와 collagenases는 류마티스 관절염이나 골관절염과 같이 조직분해와 관련된 질병에 관여되어 있고, gelatinases는 기저막 분해에 의한 혈관신생을 유도하여 암의 성장과 전이에 관여하는 것으로 알려져 있다. 치주질환 시 구강 내에는 MMP-8과 MMP-9의 분비량이 현저히 증가한다는 보고가 있으며, 질환의 염증이 치료되면 그 분비가 감소함이 알려져 있다. 최근에 알려진 MMP-13도 치주염에서 그 활성이 증가된다는 연구보고가 있다. 또한 MMP-3는 치주질환 뿐만 아니라, 류마티스 관절염과 골관절염을 포함한 다양한 염증성 질환과 관련된 결합조직의 파괴에 중요한 역할을 하며, MMP-1의 활성을 조절하여 병인과정에서 시작되는 결정적인 요소를 제공할 것이라고 보고되고 있다.

② TIMP-1

TIMP(Tissue inhibitor of metalloproteinase)는 MMP 활성을 조절하며, 4종의 TIMP가 알려져 있다. 이들 중 TIMP-1은 섬유아세포에서 유래된 MMP에 대해 강력한 억제 효과를 발휘하며, TIMP-2는 다형핵 백혈구에서 유래된 MMP에 강력한 억제 효과를 보인다. TIMP-1은 치은열구액과 치은조직 내에 존재하는 MMP에 대한 주된 억제제로써, 염증 부위에서의 치은열구액 내에 TIMP-1 단백질이 증가되어 있으며, 치주염 이환 치은 조직 내에 MMP-1과 TIMP-1 mRNA가 증가된다.

(나) 경조직

경조직은 치아의 가장 바깥층으로 치관의 표면을 덮고 있는 법랑질, 법랑질 안쪽 노란 조직인 상아질과 치근(치아 뿌리)의 표면을 덮고 있는 백악질이 있다. 백악질은 치아를 치조골에 고정시키는 역할을 한다. 상아질은 법랑질보다는 부드럽고 탄력성이 있어서 법랑질을 지지하고 깨지는 것을 방지하는 역할을 한다. 법랑질은 치아를 온도(차가움, 뜨거움), 압력, 충격으로부터 보호하는 역할을 한다. 치아 경조직 손상은 치아 표면조직의 결손(Loss)을 말하는 것으로 보통 나이가 들어감에 따라 일어나는 정상적이고 생리적인 과정이다. 그러나 파괴의 정도가 심해 치아의 기능적, 심미적 장애를 일으키거나 지각과민 상태를 유발하면 병적인 상태로 간주한다.

① Osteocalcin

뼈를 구성하는 주요한 비콜라겐단백질인 오스테오칼신(osteocalcin)은 프로트롬빈 내에서 발견된 γ -카르복시글루탐산(Gla)을 포함하는 골격의 산성단백질로 조골세포(osteoblast)와 상아아세포(odontoblast)에서만 생성되며 혈장 내 오스테오칼신 농도는 골아세포의 활성을 반영한다고 보고 있다.

② RANKL

Receptor activator of nuclear factor- κ B ligand(RANKL)는 파골세포의 TRAP 발현, 융합과 활성화를 유도하는 주요한 파골세포 분화 유도인자이며 파골세포 전구세포와 파골세포는 RANKL에 대한 수용체인 RANK를 발현한다. RANKL은 조골세포 계열의 세포나 면역세포에서 생성되며, 파골전구세포와 파골세포에 발현되는 수용체인 RANK(Receptor activator of nuclear factor- κ B)를 자극함으로써 파골전구세포의 분화를 촉진하고 파골세포의 세포자연사(apoptosis)를 억제한다. 한편 RANKL은 수용성 수용체인 osteoprotegerin(OPG)과도 결합할 수 있으며, 이런 경우에는 RANKL-RANK의 결합이 억제되어 파골세포의 생성과 활성이 억제된다.

③ Osteoprotegerin(OPG)

Osteoprotegerin (OPG)는 골모세포가 분비하는 표면단백질이며 RANK에 경쟁적으로 반응하여 RANKL이 전파골세포와 결합하지 못하게 차단하여 파골세포 분화(osteoclastogenesis)를 억제한다.

④ C-telopeptide(CTX)

C-terminal telopeptide의 혈청 내 농도가 상승하는 것은 골소실률이 증가된 환자에게서 나타나는 증상으로 보고되고 있다. 골다공증이나 기타 뼈와 연관된 질환에 대해 골소실 길항 치료(bisphosphonate 또는 호르몬대체요법)에 대한 모니터링 방법으로 적합하다.

⑤ Alkaline phosphatase(ALP)

Alkaline phosphatase(ALP)는 골세포 활성의 지표로 알려져 있다.

⑥ 치조골 소실(방사선 사진판독)

치주질환은 임상부착 소실 및 치주낭 깊이, 또는 치조골 소실(alveolar bone loss)을 동반한다. 치조골의 소실은 방사선 촬영을 하거나 치주낭 깊이를 측정해야만 확인할 수 있다.

(5) 임상적 증상

(가) 치은지수(GI, gingival index)

치은조직에 염증이 발생되면 치은 출혈, 치은의 색조변화, 치은 부종 등과 같은 임상증상이 나타나는데, 이러한 점에 착안하여 Loe & Silness가 치은의 염증상태를 측정하는 방법을 제안하였다. 치은지수는 수치가 높을수록 잇몸건강이 악화되어 있는 것을 의미한다.

(나) 치태지수(PI, plaque index)

치태(plaque)는 입 안 표면에서 자라나는 미생물막 또는 세균의 덩어리를 말하는데, 세균과 세균의 대사물질, 타액 등으로 구성된다. 식사 후 수분 내에 치아의 거의 모든 면을 덮게 되는데, 문제는 이 치태 내의 세균이다. 치태 내의 세균은 산성의 물질을 분비하는데 이 산성 물질에 의하여 치아는 부식되어 충치가 되고, 치태 내의 세균들은 독소를 분비하여 잇몸에 염증을 일으키는데 치은염 또는 치주염이 된다. 치태지수는 치태의 두께 정도를 측정하는 방법으로 구강청결도를 의미하는 지수로 값이 높을수록 구강이 청결하지 못하여 잇몸건강이 나빠질 수 있다.

(다) 임상부착수준(CAL, clinical attachment level)

임상부착수준이란 치아를 지지하는 구조물의 위치를 치주탐침을 사용하여 추정된 값을

의미하며 치아의 안정성과 치조골의 소실을 판단하는 기준으로 사용된다. 백악법랑경계로부터 치주낭 기저부까지의 거리를 측정한다. 잇몸질환이 진행될수록 부착소실과 같은 치주조직의 파괴가 증가하여 임상부착수준이 증가한다.

(라) 치은출혈지수(BOP, Bleeding on Probing)

치주낭 깊이 측정 시 출혈이 나타난 것을 백분율로 표시하는 지수로, 치은조직의 염증 정도를 측정하는 방법이다. 잇몸건강이 개선될수록 치은출혈지수는 감소한다.

(마) 치주낭 탐침깊이(PD, Probing depth)

치주낭은 치주질환의 전형적인 병소이며 그 자체가 치주질환의 진행에도 영향을 준다. 치주질환 진단 시 가장 중요한 검사법은 치주탐침을 이용하여 치주낭 깊이(PD)를 측정하는 것이다. 치주낭 깊이(pocket depth)는 병리조직학적으로 치은변연에서 치은 상피가 부착하고 있는 치은 열구 기저부 하방까지의 깊이를 의미한다. 그러나 실제로 조직표본 없이는 그 평가가 불가능하다. 따라서 조직학적 개념의 치주낭 깊이(histopathologic pocket depth) 보다 치주탐침을 열구 내에 삽입하여 측정한 깊이를 평가하는 탐침치주낭 깊이(probing pocket depth 또는 probing depth)가 임상에서 널리 이용되고 있다. 즉 임상적으로 일정한 힘을 가해 치주탐침을 열구 내로 삽입하여 들어가는 깊이(탐침 깊이; probing depth)를 임상적 치주낭 깊이(clinical pocket depth)라고 하는데 질환 심도에 따라 깊이가 달라지며 열구 내 출혈정도에 따라 치은의 염증상태를 동시에 평가할 수 있다. 잇몸질환이 진행될수록 치주낭 탐침깊이는 증가한다.

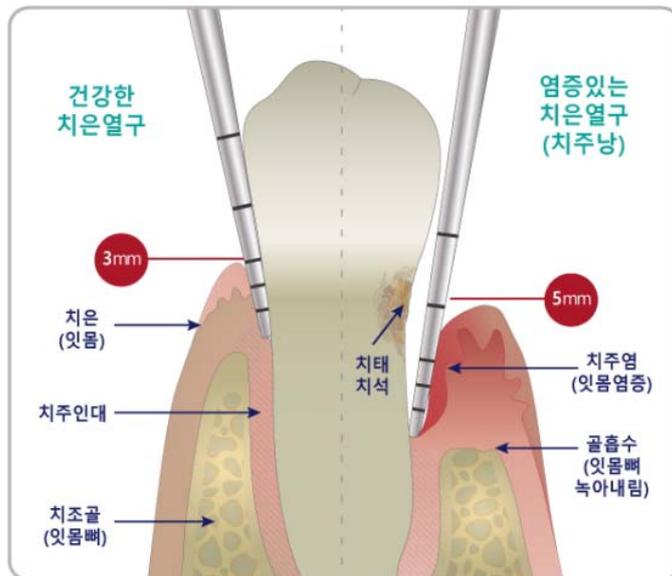


그림 7. 치주낭 탐침깊이

[출처: Dear Doctor, Inc.]

(바) 100mm VAS(Visual Analogue Scale)

VAS는 100mm선에 피험자의 현상태를 가장 잘 지시하는 곳에 피험자로 하여금 표시하게 하는 것으로 환자가 느끼는 주관적 통증의 정도를 나타내는데 사용한다. 잇몸건강이 개선될수록 VAS 값은 감소한다.

(사) 치은퇴축(Gingival recession)

치은퇴축은 잇몸이 뿌리 쪽으로 이동하는 현상이다. 치은퇴축은 잇몸염증이나 치주염에 의해 주로 발생한다. 백악법랑경계로부터 치은 변연까지의 거리를 측정한다. 잇몸질환이 진행될수록 치은퇴축은 증가한다.

(아) 치조골 소실(방사선 사진판독)

초기 잇몸질환(치은염)은 잇몸의 염증이 연조직에만 국한되어 있으면 간단한 치료로도 회복이 가능하지만, 잇몸질환이 진행될수록 잇몸뿐만 아니라 잇몸 아래 치조골까지 녹게 되는데 이것을 치주염이라 한다. 일단 치조골이 소실되면 원래 상태로의 회복은 어렵다. 치조골 소실은 방사선 평가를 통해 측정한다. 잇몸질환이 진행될수록 치조골 소실은 증가한다.

2. 주요 바이오마커의 측정 방법

(1) 산화적 스트레스 억제

(가) 항산화 효소 활성(SOD, CAT, GPx 등)

항산화 효소의 활성은 잇몸조직, 적혈구 및 혈액에서 상용화된 kit 및 spectrophotometer를 이용하여 측정할 수 있다.

(나) 라디칼 소거능

① DPPH

DPPH법은 안정한 free radical인 DPPH가 수소공여체(H-donor)와 반응하는 능력을 측정하는 것이다. DPPH는 가시선 영역에서 매우 강한 흡수를 보여주기 때문에 UV-Vis spectroscopy로 쉽게 측정할 수 있다.

② ORAC

ORAC는 세포막에 손상을 주는 ROS의 소거능을 수치화하여 항산화 능력을 평가하는 방법이다. 측정 결과를 표준 항산화제인 trolox(항산화제인 수용성 비타민 E 유사물질)와 비교하여 trolox equivalent(TE, trolox 당량: $\mu\text{mol TE/L}$)로 표시한다.

(다) DNA damage(Comet assay, 8-oxo-2'-deoxyguanosine 등)

① Comet assay

Gingival epithelial cells (GECs)와 같은 개개의 세포 수준에서 DNA 손상을 눈으로 직접 확인할 수 있는 방법이다. 전기영동 후 EtBr로 염색하여 형광현미경으로 관찰하면, DNA 손상을 입은 세포는 tail이 나타나게 되고, tail의 길이 및 tail의 형광의 강도를 측정하여 DNA 손상을 정량화 할 수 있다.

② 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine(8-OH-dG)

Gingival crevicular fluid(GCF)에서 측정이 가능하다. DNA를 구성하는 염기 중 guanine 분자의 8번째 위치에 있는 수산화기의 산화가 일어나 8-oxodG가 생성된다. 따라서 8-oxodG의 정량적 측정은 활성 산화물에 의한 체내 DNA의 손상 정도를 평가하는 지표로서 이용될 수 있다. 효소면역법을 이용하여 측정할 수 있다(guanine의 C8이 산화되어 G가 T로 전환되는 것을 측정).

(2) 항염증

(가) IL-1 β

각 피험자의 구취부에 타액으로 인한 오염을 방지하기 위하여 cotton roll로 방습한 후 미약한 저항감이 느껴질 때까지 micro pipette tip을 치은열구액 내로 삽입하여 치은열구액을 채취하여 상용화된 human IL-1 β enzyme-linked immunosorbent assay(ELISA) kit를 이용하여 치은열구액 내 IL-1 β 를 정량한다.

(나) IL-6

IL-6는 위의 IL-1 β 와 유사하게 치은열구액으로부터 상용화된 kit를 이용하여 측정할 수 있다.

(다) TNF- α

TNF- α 는 치은 섬유모세포주(Human gingival fibroblast; HGF-1)로부터 유리되는 양을 측정하거나 피험자의 타액이나 치은열구액으로부터 상용화된 kit를 이용하여 측정할 수 있다.

(라) hs-CRP

염증성 마커로 알려진 high-sensitivity CRP (hs-CRP)는 turbidimetric immuno assay 방법으로 정량할 수 있다.

(마) Prostaglandins

PGE₂는 치은 섬유모세포주 (Human gingival fibroblast; HGF-1)로부터 유리되는 양을 회수하거나 피험자의 타액이나 치은열구액으로부터 enzyme immunoassay kit를 이용하여 측정할 수 있다.

(3) 항균

시험물질의 구강세균에 대한 항균효과는 구강 내 타액 채취 후, real-time PCR에 의해 정량분석할 수 있다.

- ① 구강 내 미생물 검사: 피험자로부터 자극성 타액을 채취하여 구강 내 미생물 변화를 관찰한다. 검체 채취는 5분 동안 파라핀 왁스를 씹게 하여 50 cc 플라스틱 튜브에 자극성 타액을 받아 즉시 냉장보관한다.

- ② Real-time PCR에 의한 정량분석: DNA kit를 이용하여 genomic DNA를 추출한 후, 구강미생물의 정량분석을 위하여 Real-Time PCR Kit (Microis, Korea)를 이용하여 16s rDNA 단편을 증폭하고, 각각의 미생물 검출을 위해서는 functional gene(rgp, waa, gtf)으로부터 specific primer를 제작하여 약 200 bp 내외의 DNA 단편을 각각 증폭하여 정량분석한다.

(4) 치주조직 및 구조변화

(가) 연조직

① MMPs(MMP-3, 8, 9, 13)

MMP(Matrix metalloproteinase) 효소는 PCR을 이용하여 발현량을 조사하거나 ELISA 법으로 생성량을 측정할 수 있다.

- PCR을 이용한 발현량 조사: 치은섬유아세포 또는 치주인대세포를 배양하거나 동물 또는 인체 치아조직으로부터 RNA 분리 후 각 MMPs별 oligonucleotide primer를 이용하여 cDNA를 증폭하여 발현량을 조사한다.
- ELISA : 타액 또는 치은열구액로부터 상용화된 Kit를 이용하여 측정한다.

② TIMP-1

TIMP(tissue inhibitor of metalloproteinase)는 치은 섬유모세포주(Human gingival fibroblast: HGF-1)로부터 유리되는 양을 회수하거나 피험자의 타액이나 치은열구액으로부터 enzyme immunoassay kit를 이용하여 측정할 수 있다.

(나) 경조직

① Osteocalcin

오스테오칼신(osteocalcin)은 혈액, 타액, 치은열구액으로부터 전기화학형 발광법(electrochemiluminescence immunoassay, ECLIA)을 이용하여 측정할 수 있다.

② RANKL

치주인대세포로부터 유리되는 soluble RANKL의 양을 측정하거나 피험자의 타액, 치은열구액으로부터 enzyme immunoassay kit를 이용하여 측정할 수 있다. 또는 치주인대세포나 피험자 조직으로부터 RNA를 분리하여 RANKL의 발현량을 조사할 수도 있다.

③ Osteoprotegerin(OPG)

치주인대세포로부터 유리되는 OPG의 양을 측정하거나 피험자의 타액, 치은열구액으로부터 enzyme immunoassay kit를 이용하여 측정할 수 있다. 또는 치주인대세포나 피험자 조직으로부터 RNA를 분리하여 OPG의 발현량을 조사할 수도 있다.

④ C-Telopeptide(CTX)

CTX는 골흡수의 산물이 혈청과 소변으로 배출되는 양을 측정하는 골흡수 표지자 중 하나로 혈청이나 타액, 치은열구액으로부터 ELISA kit를 이용하여 측정할 수 있다.

⑤ Alkaline phosphatase(ALP)

ALP의 활성은 alkaline phosphatase substrate Kit(Bio-Rad, USA)와 같은 상용화된 kit를 이용하여 측정할 수 있다. p-nitrophenyl phosphate(pNPP)의 가수분해 반응에 ALP가 촉매로 작용하는 것을 이용하여, 가수분해의 산물이 p-nitrophenol의 양을 측정함으로써 활성을 계산한다.

(5) 임상적 증상

(가) 치은지수(GI, Gingival index)

Loe & Silness의 치은 지수를 이용하여 치은의 염증상태를 측정하는 방법이다. 각 치아의 치은연을 협면, 설면, 근심면, 원심면으로 나누고 치주 탐침을 이용하여 치은조직의 건강 상태만을 평가한다. 측정 범위는 0점(염증 없음), 1점(경도의 염증), 2점(중등도 염증), 3점(중증 염증)으로 분류되며, 치아 당 평균을 구한다.

(나) 치태지수(PI, Plaque index)

구강청결도를 의미하는 지수로서 치태의 두께에 따라 치태가 부착되어 있지 않은 상태는 0, 치아와 유리치은 변연에 부착된 치태로서 치주 탐침기로 치면을 긁어보아 확인할 수 없는 얇은 상태는 1, 치은낭과 치은변연을 따라 육안으로 확인될 수 있을 정도로 과량의 치태가 부착되어 있고 치간 사이에 치태가 없는 상태는 2, 치은변연에 많은 양의 치태가 침착되어 있고 치간 사이에도 치태가 채워져 있는 상태는 3으로 구분하여 표기한다.

(다) 임상부착수준(CAL, Clinical attachment level)

백악법랑경계로부터 치주낭 기저부까지의 거리를 측정한다.

(라) 치은출혈지수(BOP, Bleeding on Probing)

치주 탐침(Marquis probe, Hu-Friedy, USA)을 이용하여 각 치아의 근, 원심면을 20g 이하의 압력으로 점합상피까지 치근단 방향으로 삽입한 후 20초 후 치은의 출혈 유무로 판정하였다. 각 치아의 근, 원심면의 출혈 여부를 확인하여 출혈 시 1점, 출혈이 없는 경우 0점으로 계산 한 후 치아 당 평균을 구한다.

(마) 치주낭 탐침깊이(PD, Probing depth)

치주 탐침(Marquis probe, Hu-Friedy, USA)을 이용하여 치은변연부터 치주낭 또는 치은열구 기저부까지의 거리를 근심 협면, 협면 중앙부, 원심 협면, 원심 설면, 설면 중앙부, 근심 설면의 6부위를 측정 한 후 치아 당 측정치의 평균을 구한다.

(바) 100mm VAS (Visual Analogue Scale)

VAS는 100mm선에 피험자의 현재 상태를 가장 잘 나타내는 곳에 피험자로 하여금 표시 하게 하는 것으로 환자가 느끼는 주관적 통증의 정도를 나타내는 데 사용한다. 피험자의 지각 과민완화에 대한 만족도를 0에서 100까지 수치화한다.

(사) 치은퇴축(Gingival recession)

치은퇴축은 잇몸이 뿌리 쪽으로 이동하는 현상이다. 직경 0.5 mm의 William's 탐침을 이용하여 백악법랑경계부에서 치은변연부까지의 거리를 가장 가까운 mm값으로 측정한다.

(아) 치조골 소실(방사선 사진판독)

치조골 소실은 방사선 평가를 통해 측정한다. 방사선적 평가는 치과용 구내 치근단 방사선 사진을 XCP 장치를 이용하여 평행법으로 촬영한다. 각 방사선 사진을 컴퓨터 스캔으로 디지털 화하여 Image Analysis Software를 이용하여 측정한다. 백악 법랑 경계에서 치조골 내 결손부의 가장 깊은 곳까지의 거리를 치아 장축에 평행하게 측정한다.

3. 시험 설계 시 고려사항

(1) 시험관 시험

(가) 시험계

시험관 시험은 구강세균에 대한 항균시험, 세포주를 활용한 항염증 시험 등이 있다. 치주인대 섬유모세포(human periodontal ligament fibroblasts), 치은상피세포(human gingival epithelial cell) 등에 구강세균 또는 H₂O₂ 등으로 산화적 손상 및 염증을 유발하여 시험물질의 잇몸건강 개선 효과를 측정할 수 있다.

(나) 바이오마커

시험물질의 작용기전을 설명하기 위하여 예상되는 대사 경로에 위치하고 있는 유전자, 효소, 전사인자, 신호전달물질, 대사산물 등의 바이오마커에 대한 활성 및 그 발현 정도 등을 측정한다.

(다) 통계처리

시험결과는 시험물질 처리에 따른 변화 또는 대조군과 시험군을 통계적으로 비교하여 $p < 0.05$ 수준에서 유의성을 판정한다.

(2) 동물시험

(가) 실험동물

치주염을 유도한 동물모델을 이용하여, 시험물질을 투여한 후 잇몸건강과 관련된 바이오마커를 측정한다. 관찰하고자 하는 목적에 따라 다양한 모델을 사용하여 잇몸건강 개선에 대한 효과를 종합적으로 판단한다. 치주염 유도에 사용되는 동물모델의 예는 아래와 같다.

※ 치주염 합자 유발 모델 (Ligature-induced periodontitis model)

6~7주령의 Sprague-Dawley rat과 같은 실험동물을 tiletamine/zolazepam 혼합액 (Zoletil 50, Virbac Lab, Carroscedex, France)으로 전신 마취 후 하악 제 1 대구치에 멸균된 봉합사(3-0, nylon thread)로 결찰하여 치주염을 유발한다.

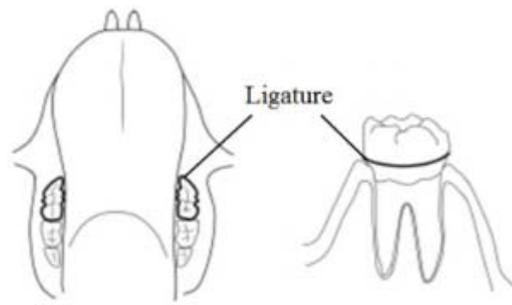


그림 8. 치주염 유발을 위한 시험디자인

[출처: Journal of Korean Medicine, 2018]

(나) 바이오마커

실험동물을 대상으로 원료의 경구투여 또는 섭취에 의한 항산화, 항염증, 항균, 치주 조직 및 구조변화 관련 지표 변화를 측정한다.

(다) 통계처리

시험결과는 대조군과 시험군을 통계적으로 비교하여 $p < 0.05$ 수준에서 유의성을 판정한다.

(3) 인체적용시험

(가) 시험대상

① 시험대상자(예시)

잇몸건강 기능성 평가를 위한 인체적용시험의 시험대상자는 만성 치주염 환자를 대상으로 하는 의약품과는 다르게 잇몸건강에 대해 염려하는 자 또는 치은염 질환자로 치주염으로 진행이 가능한 자를 선정하는 것을 기본으로 한다. 단, 치은염의 개선을 확인하는 데 있어 경증의 치주염을 가진 자를 대상으로 인체적용시험을 수행할 수 있다.

- 만 19세 이상 만 80세 미만의 성인남녀
- 치주낭 탐침깊이가 3~5 mm인 자
- 탐침 시 출혈이 있는 자
- 치은염 또는 경증 치주염 증상이 있는 자
- 잔존 치아 개 20개 이상인 자

* 치주낭 탐침깊이가 5~6 mm에 속하는 자 또는 중등증 치주염이 있는 자가 일부(윤리적으로 허용되는 범위) 포함될 경우 약물을 복용하거나 약물 처방이 필요한 자는 반드시 제외되어야 함

② 대상자 제외기준(예시)

- 질병상태
 - 시험 시작 1개월 이내에 스케일링 또는 6개월 이내에 치주치료를 받은 자
 - 구강 내 연조직에 심각한 병적 소견을 보이는 자
 - 과거 5년 이내에 암이 발현된 환자
 - 시험 기간 중 동반되는 치과질환에 의해 수술, 발치 등이 필요한 경우
 - 조절되지 않는 고혈압환자(160/100 mmHg 이상, 시험대상자 10분 안정 후 측정기준)
 - 혈당이 조절되지 않는 당뇨병환자(공복혈당 180mg/dL 이상 또는 3개월 이내에 당뇨로 인해 약제를 새로 시작하는 경우)
- 생리적 상태
 - 임신부, 임신을 준비하는 사람
 - 수유부
 - 출산 후 6개월 이내 여성
- 약물복용
 - 출혈성 병력이나 질환을 가진 환자, 또는 이의 예방을 위해 항혈소판제 또는 항응고제를 복용하고 있는 환자
 - 최근 1개월 이내 치주상태에 영향을 줄 수 있는 약물(phenytoin, CCBs, cyclosporine, cumadin, NSAIDs, aspirin 등)을 5일 이상 연속 복용 한 자
 - 최근 1개월 이내 항생제, 치주질환보조치료제를 복용한 경험이 있는 환자
- 생활 습관
 - 과도한 알코올 섭취(> 2 g/일)
- 알러지
 - 실험물질에 대한 알러지/부작용
- 기타
 - 시험시작 1개월 이내에 잇몸건강과 관련된 건강기능식품을 복용한 자
 - 최근 1개월 내 다른 임상실험에 참가한 자
 - 연구자에 의해 실험에 부적합하다고 판단되는 자

(나) 시험설계

무작위배정, 위약대조연구(Randomized, controlled trial; RCT)를 기본으로 한다.

(다) 바이오마커

인체적용시험에서 기능성 내용을 확인할 수 있는 직접적인 지표로서 치은지수, 치태지수, 임상부착수준, 치은출혈지수, 치주낭 탐침깊이 100 mm VAS, 치은퇴축, 치조골 소실 등에서 개선됨이 확인 필요하며, 기능성 내용 확인을 뒷받침할 수 있는 항산화, 항염증, 항균, 치주조직 및 구조변화와 관련된 지표를 측정한다.

(라) 통계처리

시험결과는 대조군과 시험군을 통계적으로 비교하여 $p < 0.05$ 수준에서 유의성을 판정한다.

IV

참고문헌

1. 「건강기능식품 기능성 원료 및 기준·규격 인정에 관한 규정」, 식품의약품안전처 고시 제 2018-73호 2018.
2. 건강기능식품(개정판), 김미경, 권오란, 전향숙, 원혜숙, 김지연, 강병철, 제정환, 한재갑, 홍성화, 복혜숙, 김우선, 피재호, 박현용, 김현정, 교문사 2010.
3. 건강기능식품 기능성 평가 해설서, 식품의약품안전처 2008.
4. 김미정. 케토락트로메타민과 치자가수분해물이 함유된 Hydrogel 제의 피부투과 및 치주염 완화효과. 치위생과학회지 2005, 5(3):113-117.
5. 김선규, 신미경, 어규식, 이진용, 홍정표, 전양현. *P. gingivalis*에 대한 피톤치드의 항균효과. 대한구강내과학회지 2007, 32(2):137-150.
6. 김애옥, 최충호, 홍석진. 식초음료의 *Candida albicans*에 대한 성장억제 기전에 관한 연구. 한국융합학회논문지 2018, 9(12):137-143.
7. 김예진, 허웅, 최한석, 강기성, 황귀서, 백지윤, 구분암, 김현영. 두충 추출물의 잇몸상피세포 염증에 대한 항염증 효과. 생약학회지 2019, (3):185-190.
8. 김예황, 이정화. 스트레스, 수면시간 및 주관적 구강건강 상태가 치주질환에 미치는 영향. 보건 의료산업학회지 2017, 11(4):169-178.
9. 김일신. 한국인 전반적 급진성 치주염 환자에서 발견된 TNF- α 유전자의 다변성. 디지털융복합 연구 2016, 14(1):321-326.
10. 김재민, 황희진. 한국 성인의 비타민 D와 치주질환의 관계. 치위생과학회지 2018, 18(4):210-217.
11. 김지혜, 김기림, 진혜정, 임상욱, 송근배, 최연희. Polycan-Calcium Gluconate 복합제에 의한 염증인자의 감소 효과. 치위생과학회지 2014, 14(2):223-229.
12. 김태일, 최은정, 정종평, 한수부, 구영. 옥수수 불검화 추출물(*Zea Mays* L.)과 후박 (*Magnoliae cortex*) 추출물 혼합물의 치주질환원인균에 대한 항균작용 및 치은섬유아세포 활성화도에 미치는 영향. 대한치주과학회지 2002, 32(1):249-255.
13. 김혜수, 이상우, 콩마니 시다래, 조수정. *Streptococcus mutans*에 대한 인도감나무 줄기 추출물의 항균활성 및 생물막 형성 억제 효과. 생명과학회지 2019, 29(1):90-96.
14. 민대진, 이성원, 이성훈, 김승섭, 김찬호, 이존환, 배지현, 김한곤. 녹차추출물의 잇몸 질환 원인균에 대한 항염증 효능 연구. 대한화장품학회지 2011, 37(1):67-73.
15. 박성표, 정현주, 김영준, 김옥수. 치은 섬유모세포에서 Triclosan에 의한 Prostaglandin E₂ 합성 억제. 대한치주과학회지 2004, 34(2):345-356.

16. 박순낭, 이동균, 임윤경, 김화숙, 조유진, 김동춘, 김생곤, 국중기. 치아우식증 및 치주질환 원인균에 대한 Carvacrol의 항균효과. 미생물학회지 2012, 48(1):52-56.
17. 박영미, 이영래, 박상훈, 이봉근, 박연주, 오홍근, 문대인, 손민우, 강양규, 김옥진, 이석련, 이충훈, 김민석, 이학용. 치주염증에 대한 마치현 및 금전초 에탄올 추출물의 억제 효과. J Physiol & Pathol Korean Med 2015, 29(1):46-50,
18. 박준혁, 이해수, 양용모. 한련초 추출물의 치주염 개선 효과에 관한 연구. 대한한의학회지 2018, 39(1):63-74.
19. 박지아. 치주염, 치주병원균 및 전신건강지표 간 연관성 : 병원기반 건강검진 수검자를 중심으로. 서울대학교 대학원 2019.
20. 박현경, 이민경, 전은숙, 유수빈, 김혜진. 발포비타민을 이용한 구강세정 및 섭취가 구강내 치주질환 유발 세균 감소에 미치는 효과 비교. 한국치위생학회지 2019, 19(3):387-397.
21. 방선정, 김일신, 김옥수, 김영준, 정현주. 한국인 전반적 급진성 치주염 환자에서 IL-6 유전자 다변성에 관한 연구. 대한치주과학회지 2008, 38:579-588.
22. 백동헌. 구강 질환 유발 미생물에 대한 항생작용을 갖는 천연물 추출물 검색. The Korean J Microbiol 2007, 43(3):227-231.
23. 백영란, 이재목. 만성 치주염 환자의 치은 조직에서 RANK 및 RANKL의 발현. J Periodontal Implant Sci 2007, 37(4):849-857.
24. 백한승, 강수경, 어규식, 전양현, 홍정표. 몰약, 라타니아, 카모밀레 등의 구강 내 병원균에 대한 항균작용. 대한구강내과학회지 2013, 38(4):299-312.
25. 이동재, 한일민, 김우정, 조인식. 치주 질환 예방 및 치료용 소재로서 수종의 생약성분 추출물에 관한 항균, 항염, 항산화 효능 연구. J Dent Hyg Sci 2010, 10(1):25-29.
26. 이동재, 한일민, 김우정, 조인식. 치주 질환 예방 및 치료용 소재로서 수종의 생약성분 추출물에 관한 항균, 항염, 항산화 효능 연구. 치위생과학회지 2010, 10(1):25-29.
27. 이석준. 구강건강행태와 고감도 C-반응성 단백질의 상관관계: 국민건강영양조사 제6기 (2015년)자료. J Health Info Stat 2018, 43(1):64-69.
28. 이승희, 김민정. 치주염 원인균에 대한 천연 식물 추출물의 항균효과. 한국콘텐츠학회논문지 2019, 19(1):242-255.
29. 임종필. 화피의 충치균과 치주질환균에 대한 항균활성 및 항염효과. 동의생리병리학회지 2011, 25(4):635-640.
30. 장종화, 박용덕, 류다영. Garlic extract 배합 치약의 치주질환 균주에 대한 항균 효과. 한국치위생학회지 2012, 12(3):631-640.
31. 장종화. 마늘추출물 함유 치약이 치면세균막 감소 및 치은염 완화에 미치는 영향. 한국치위생교육학회지 2008, 8(2):67-76.

32. 정성희, 어규식, 전양현, 홍정표. 피톤치드 처리 후 구강 내 잔존 *S. thermophilus*의 *P. gingivalis*에 대한 효과. 대한구강내과학회지 2009, 34(1):23-37.
33. 정소영, 이천희, 안선하. 도라지 추출물의 구강미생물에 대한 항균효과. 보건의료산업학회지 2019, 13(2):135-142.
34. 조관표, 최득철, 김영준. 백서 치주인대세포에서 Doxycycline에 의한 mRANKL 발현 억제. 대한치주과학회지 2006, 36(2):335-344.
35. 채규창, 어규식, 전양현, 홍정표. 인진쑥의 구강세균에 대한 항균작용. 대한구강내과학회지 2009, 34(2):169-177.
36. 천세희, 정성화. 한국 성인에서 비타민 섭취와 치주염 유병간의 관련성. 치위생과학회지 2014, 14(4):468-476.
37. 최영숙, 성정민. IT 시대에서의 자연추출물 사용으로 인한 구강환경 효과연구. 한국전자통신학회 논문지 2016, 11(7):701-706.
38. 허메이통, 김지현, 김영실, 박혜숙, 조은주. 무막줄기세포추출물의 H₂O₂에 의해 유도된 치주 세포의 염증 반응 보호 효과. 한국산학기술학회논문지 2019, 20(6):95-103.
39. Carrouel F, Viennot S, Santamaria J, Veber P, Bourgeois D. Quantitative Molecular Detection of 19 Major Pathogens in the Interdental Biofilm of Periodontally Healthy Young Adults. Front Microbiol 2016, 7:840.
40. Chandra RV, Srinivas G, Reddy AA, Reddy BH, Reddy C, Nagarajan S, Naveen A. Locally delivered antioxidant gel as an adjunct to nonsurgical therapy improves measures of oxidative stress and periodontal disease. J Periodontal Implant Sci 2013, 43(3):121-129.
41. Cirano FR, Casarin RC, Ribeiro FV, Casati MZ, Pimentel SP, Taiete T, Bernardi MM. Effect of Resveratrol on periodontal pathogens during experimental periodontitis in rats. Braz Oral Res 2016, 30(1):e128.
42. Drury JL, Chung WO. DNA methylation differentially regulates cytokine secretion in gingival epithelia in response to bacterial challenges. Pathog Dis 2015, 73(2):1-6.
43. Franco C, Patricia HR, Timo S, Claudia B, Marcela H. Matrix Metalloproteinases as Regulators of Periodontal Inflammation. Int J Mol Sci 2017, 18(2):E440.
44. Freire JMO, Chaves HV, Teixeira AH, de Sousa LHT, Pinto IR, Costa JJDN, de Sousa NA, Pereira KMA, Girao VCC, Ferreira VCS, Dos Santos JEA, Lima MAS, Pimenta ATA, Montenegro RC, de Moraes MEA, Pinto VPT, Filho GC, Bezerra MM. Protective effect of *Platymiscium floribundum* Vog. in tree extract on

- periodontitis inflammation in rats. PLoS 2019, 14(11):e0223800.
45. Gurkan CG, Keleş GC, Kurt S, Ciftci A, Ayas B, Guler Ş, Cetinkaya BO. Histopathological and biochemical evaluation of paeoniflorin administration in an experimental periodontitis model. J Oral Sci 2019, 61(4):554-557.
 46. Haffajee AD, Socransky SS, Patel MR, Song X. Microbial complexes in supragingival plaque. Oral Microbiol Immunol 2008, 23(3):196-205.
 47. Hajishengallis G, Kajikawa T, Hajishengallis E, Maekawa T, Reis ES, Mastellos DC, Yancopoulou D, Hasturk H, Lambris JD. Complement-Dependent Mechanisms and Interventions in Periodontal Disease. Front Immunol 2019, 10:406.
 48. He W, You M, Wan W, Xu F, Li F, Li A. Point-of-Care Periodontitis Testing: Biomarkers, Current Technologies, and Perspectives. Trends Biotechnol 2018, 36(11):1127-1144.
 49. Liu C, Mo L, Niu Y, Li X, Zhou X, Xu X. The Role of Reactive Oxygen Species and Autophagy in Periodontitis and Their Potential Linkage. Front Physiol 2017, 8:439.
 50. Ji S, Choi YS, Choi Y. Bacterial invasion and persistence: critical events in the pathogenesis of periodontitis?. J Periodont Res 2015, 50:570-585.
 51. Kaklamanos EG, Nassar R, Kalfas S, Al Halabi M, Kowash M, Hannawi H, Hussein I, Salami A, Hassan A, Senok AC. A single-centre investigator-blinded randomised parallel group clinical trial to investigate the effect of probiotic strains Streptococcus salivarius M18 and Lactobacillus acidophilus on gingival health of paediatric patients undergoing treatment with fixed orthodontic appliances: study protocol. BMJ Open 2019, 9(9):e030638.
 52. Khalifehzadeh S, Haghanifar S, Jenabian N, Kazemi S, Hajiahmadi M. Clinical and radiographic evaluation of applying 1% metformin biofilm with plasma rich in growth factor (PRGF) for treatment of two-wall intrabony periodontal defects: A randomized clinical trial. J Dent Res Dent Clin Dent Prospects 2019, 13(1):51-56.
 53. Kim JH, Kim AR, Choi YH, Lee DE, Woo GH, Bak EJ, Yoo YJ. TNF- α Inhibitor Reduces Odontoclast Formation in Diabetes Rats with Ligature-Induced Periodontitis. Int J Oral Biol 2017, 42(3):137-142.
 54. Kubra B, Andreas H, Thomas B. Polyphenols in the prevention and treatment of periodontal disease: A systematic review of in vivo, ex vivo and in vitro studies.

- Fitoterapia 2019, 132:30-39.
55. Lee HJ, Kim SJ, Park YS, Ko J, Cho HJ. Association between semi-solid yogurt intake and periodontitis in Korean adults. *J Periodontal Implant Sci* 2019, 49(4):206-214.
 56. Lee J, Park JC, Jung UW, Choi SH, Cho KS, Park YK, Kim CS. Improvement in periodontal healing after periodontal surgery supported by nutritional supplement drinks. *J Periodontal Implant Sci* 2014, 44(3):109-117.
 57. Lee K, Kim J. Dairy Food Consumption is Inversely Associated with the Prevalence of Periodontal Disease in Korean Adults. *Nutrients* 2019, 11(5):E1035.
 58. Lee SH, Baek DH. Antibacterial Activity of Hydrogen-rich Water Against Oral Bacteria. *Int J Oral Biol* 2013, 38(2):81-85.
 59. Leira Y, Iglesias-Rey R, Gomez-Lado N, Aguiar P, Sobrino T, D'Aiuto F, Castillo J, Blanco J, Campos F. Periodontitis and vascular inflammatory biomarkers: an experimental in vivo study in rats. *Odontology* 2019, 108(2):202-212.
 60. Lemes RS, Alves CCF, Estevam EBB, Santiago MB, Martins CHG, Santos TCLD, Crotti AEM, Miranda MLD. Chemical composition and antibacterial activity of essential oils from *Citrus aurantifolia* leaves and fruit peel against oral pathogenic bacteria. *An Acad Bras Cienc* 2018, 90(2):1285-1292.
 61. Martini D, Innocenti A, Cosentino C, Bedogni G, Angelino D, Biasini B6, Zavaroni I, Ventura M, Galli D, Mirandola P, Vitale M, Dei Cas A, Bonadonna RC, Passeri G, Pruneti C, Del Rio D. Claimed effects, outcome variables and methods of measurement for health claims on foods proposed under Regulation (EC) 1924/2006 in the area of oral health. *Nutrients* 2018, 10(2):E211.
 62. Nakajima M, Arimatsu K, Minagawa T, Matsuda Y, Sato K, Takahashi N, Nakajima T, Yamazaki K. Brazilian propolis mitigates impaired glucose and lipid metabolism in experimental periodontitis in mice. *BMC Complement Altern Med* 2016, 16(1):329.
 63. Nielsen SJ, Trak-Fellermeier MA, Joshipura K, Dye BA. Dietary Fiber Intake Is Inversely Associated with Periodontal Disease among US Adults. *J Nutr* 2016, 146(12):2530-2536.
 64. Palaska I, Papathanasiou E, Theoharides TC. Use of polyphenols in periodontal inflammation. *Eur J Pharmacol* 2013, 720(1-3):77-83.
 65. Pan W, Wang Q, Chen Q. The cytokine network involved in the host immune

- response to periodontitis. *Int J Oral Sci* 2019, 11(3):30.
66. Perayil J, Menon KS, Kurup S, Thomas AE, Fenol A, Vyloppillil R, Bhaskar A, Megha S. Influence of Vitamin D & Calcium Supplementation in the Management of Periodontitis. *J Clin Diagn Res* 2015, 9(6):ZC35-38.
 67. Puhar I, Kapudija A, Kasaj A, Willershausen B, Zafiropoulos GG, Bosnjak A, Plancak D. Efficacy of electrical neuromuscular stimulation in the treatment of chronic periodontitis. *J Periodontal Implant Sci* 2011, 41(3):117-122.
 68. Raj K. Verma, Sunethra Rajapakse, Archana Meka, Clayton Hamrick, Sheela Pola, Indraneel Bhattacharyya, Madhu Nair, Shannon M. Wallet, Ikramuddin Aukhil, and Lakshmyya Kesavalu. Porphyromonas gingivalis and Treponema denticola Mixed Sanchez MC, Ribeiro-Vidal H, Esteban-Fernandez A, Bartolome B, Figuero E, Moreno-Arribas MV, Sanz M, Herrera D. Antimicrobial activity of red wine and oenological extracts against periodontal pathogens in a validated oral biofilm model. *BMC Complement Altern Med* 2019, 19(1):145.
 69. Sahingur SE, Yeudall WA. Andrew Yeudall. Chemokine function in periodontal disease and oral cavity cancer. *Front Immunol* 2015, 5:214.
 70. Sha AM, Garib BT. Antibacterial Effect of Curcumin against Clinically Isolated Porphyromonas gingivalis and Connective Tissue Reactions to Curcumin Gel in the Subcutaneous Tissue of Rats. *Biomed Res Int* 2019, 2019:6810936.
 71. Shetty S, Thomas B, Shetty V, Bhandary R, Shetty RM. An in-vitro evaluation of the efficacy of garlic extract as an antimicrobial agent on periodontal pathogens: A microbiological study. *Ayu* 2013, 34(4):445-451.
 72. Silva N, Abusleme L, Bravo D, Dutzan N, Garcia-Sesnich J, Vernal R, Hernandez M, Gamonal J. Host response mechanisms in periodontal diseases. *J Appl Oral Sci* 2015, 23(3):329-355.
 73. Silvana P. Barros, Ray Williams, Steven Offenbacher, Thiago Morelli. Gingival Crevicular as a Source of Biomarkers for Periodontitis. *HHS Public Access* 2016, 70(1): 53-64.
 74. Swain GP, Patel S, Gandhi J, Shah P. Development of Moxifloxacin Hydrochloride loaded in-situ gel for the treatment of periodontitis: In-vitro drug release study and antibacterial activity. *J Oral Biol Craniofac Res* 2019, 9(3):190-200.
 75. Sweeting LA, Davis K, Cobb CM. Periodontal Treatment Protocol (PTP) for the general dental practice. *J Dent Hyg* 2008, 3:16-26.

76. Taba M Jr, Kinney J, Kim AS, Giannobile WV. Diagnostic Biomarkers for Oral and Periodontal Diseases. *Dent Clin North Am* 2005, 49(3):551-571
77. Tabari ZA, Azadmehr A, Tabrizi MA, Hamissi J, Ghaedi FB. Salivary soluble receptor activator of nuclear factor kappa B ligand/osteoprotegerin ratio in periodontal disease and health. *J Periodontal Implant Sci* 2013, 43(5):227-232.
78. Tonetti MS, Greenwell H, Kornman KS. Staging and grading of periodontitis: Framework and proposal of a new classification and case definition. *J Clin Periodontol* 2018, 45(20):5149-5161.
79. Tsou SH, Hu SW, Yang JJ, Yan M, Lin YY. Potential Oral Health Care Agent from Coffee Against Virulence Factor of Periodontitis. *Nutrients* 2019, 11(9):E2235.
80. Varela-Lopez A, Navarro-Hortal MD, Giampieri F, Bullon P, Battino M, Quiles JL. Nutraceuticals in Periodontal Health: A Systematic Review on the Role of Vitamins in Periodontal Health Maintenance. *Molecules* 2018, 23(5):E1226.
81. Wang Y, Andrukhov O, Rausch-Fan X. Oxidative Stress and Antioxidant System in Periodontitis. *Front Physiol* 2017, 8:910.
82. Widen C, Coleman M, Criten S, Karlgren-Andersson P, Renvert S, Persson GR. Consumption of bilberries controls gingival inflammation. *Int J Mol Sci* 2015, 16(5):10665-10673.
83. Yadav SK, Khan G, Mishra B. Advances in patents related to intrapocket technology for the management of periodontitis. *Recent Pat Drug Deliv Formul* 2015, 9(2):129-145.
84. Yu L, Zhou C, Wei Z, Shi Z. Effect of combined periodontal-orthodontic treatment on NOD-like receptor protein 3 and high mobility group box-1 expressions in patients with periodontitis and its clinical significance. *Medicine (Baltimore)* 2019, 98(44):e17724.
85. Yuki O, Furutani C, Mizota Y, Wakita A, Mimura S, Kihara T, Ohara M, Okada Y, Okada M, Nikawa H. Effect of bovine milk fermented with *Lactobacillus rhamnosus* L8020 on periodontal disease in individuals with intellectual disability: a randomized clinical trial. *J Appl Oral Sci* 2019, 27:e20180564.
86. Zhang X, Han N, Li G, Yang H, Cao Y, Fan Z, Zhang F. Local icariin application enhanced periodontal tissue regeneration and relieved local inflammation in a minipig model of periodontitis. *Int J Oral Sci* 2018, 10(2):19.

건강기능식품 기능성 평가 가이드(민원인 안내서)
- '잇몸건강에 도움을 줄 수 있음' 편 -

발 행 인 : 이동희

편 집 위 원 장 : 황인균

편 집 위 원 : 이해영, 윤태형, 권광일, 허수정, 국주희, 김규현, 김준영,
주도영, 오재명, 황경미, 방수진, 안정선, 김선후, 문상은,
김아름

발 행 처 : 식품의약품안전평가원

발 행 일 : 2020년 8월

문 의 처 : 식품위해평가부 영양기능연구과

(043-719-4402, 4416, 4421, 4422, 4423, 4425, 4430)

건강기능식품 기능성 평가 가이드

‘잇몸건강에 도움을 줄 수 있음’ 편



【부패. 공익신고】 신고자 및 신고내용은 보호됩니다.

- ▶ 식약처 홈페이지 “국민소통 > 국민신문고 > 부패.공익신고” 코너
- ▶ 식약처 홈페이지 “국민소통 > 신고센터 > 부패.공익신고 상담” 코너