

구강세치제에 함유된 SLS(Sodium lauryl Sulfate)가 HaCaT 세포와 NIH-3T3 세포에 미치는 독성 효과

박상례 · 김영민¹ · 최별보라² · 김지영경남정보대학교 치위생과 · ¹부산대학교 치의학전문대학원 구강해부학교실 · ²동서대학교 치위생학과

The effect of the cytotoxicity of sodium lauryl sulfate containing toothpaste on HaCaT and NIH-3T3 cells

Sang-Rye Park · Young-Min Kim¹ · Byul-Bora Choi² · Ji-Young KimDepartment of Dental Hygiene, Kyungnam College of Information & Technology · ¹Department of Oral Anatomy, School of Dentistry, Pusan National University · ²Department of Dental Hygiene, Division of Health Sciences, Dongseo University***Corresponding Author: Ji Young Kim**, Department of Dental Hygiene, Kyungnam College of Information & Technology, Busan, Rep. Korea, Tel : +82-51-320-2921, Fax : +82-51-320-2925, E-mail : kji1@kit.ac.kr

Received: 24 April 2015; Revised: 29 June 2015; Accepted: 30 July 2015

ABSTRACT

Objectives: The purpose of this study was to determine the toxic effects of sodium lauryl sulfate(SLS) in human keratinocyte HaCaT cells and mouse fibroblast NIH-3T3 cells.**Methods:** The effect of sodium lauryl sulfate(SLS) cell viability and proliferation were determined by WST-1 assay and changes shape of nucleus were evaluated by Hoechst staining under fluorescence microscopy. Additionally, observation of cell morphological changes under light microscopy.**Results:** SLS induced cytotoxicity and a marked apoptosis in both HaCaT and NIH-3T3 cell lines. With the result of the WST-1 assay, SLS induced the cytotoxicity of 0.005% and 0.0075%, 0.01% SLS for 24 h after HaCaT and NIH-3T3 cells in time and dose-dependent manner($p < 0.005$). SLS inhibited cell growth and caused apoptosis as evidenced by nuclear fragmentation and condensation. Thus, determination of the morphological changes to define apoptosis was visualized using inverted phase contrast microscopy.**Conclusions:** SLS had toxicity of the human keratinocyte cells and mouse fibroblast cells and this study will provide the basic data for the development of proper SLS concentration in dentifrice.**Key Words:** apoptosis, cytotoxicity, fibroblast, keratinocyte, sodium lauryl sulfate**색인:** 세포자멸사, 세포독성, 섬유모세포, 각질세포, 소듐 라우릴 설페이트

서론

오늘날 산업 발달로 인한 소득 및 생활수준의 향상으로

▶ 본 연구는 2014년도 특성화전문대학 육성사업으로 지원을 받아 수행된 것임.

Copyright©2015 by Journal of Korean Society of Dental Hygiene
This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>), which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in medium, provided the original work is properly cited.인해 사람들의 미(美)에 대한 관심도는 급격히 증가하고 있다. 이러한 미에 대한 관심을 충족시키기 위하여 화장품 및 다양한 세정제가 개발되기 시작하였으며, 우리가 일상생활에서 흔히 사용되는 화장품, 샴푸, 바디 클렌저, 비누, 치약 등에는 다양한 계면활성제가 함유되어 있다¹⁾. 계면활성제는 계면의 장력을 저하시키며 물에 녹는 친수성과 기름에 녹는 소수성의 특징을 가지고 있는 화학물질로 이루어져 있다²⁾. 또한, 구강세치제로 매일 사용하고 있는 치약의 주성분인 세제(detergent)에도 계면활성제가 포함되어 있으며, 이러한

계면 활성제는 치면에 부착되어 있는 치면세균막에 침투하여 부화시키거나 부유시켜 유기물을 제거하는 역할을 한다³⁾. 구강 세치제에 함유되어 있는 대표적인 계면활성제인 Sodium lauryl sulfate(SLS)는 세정력과 기포력이 매우 우수하여 구강 세치제 뿐만 아니라, 가정용 화학물질로서 광범위하게 이용되고 있으며, 저렴한 가격으로 인해 산업, 의류 등에서도 폭넓게 이용되고 있다. SLS는 음이온 계면 활성제로서 치면세균막의 표면에 흡착하여 표면장력을 감소시켜 이물질이 잘 떨어지게 하여 치아 표면을 깨끗하게 하는 역할을 한다^{4,5)}. 그러나 미국 독성학 연구 보고서에 의하면 SLS는 피부를 통하여 쉽게 흡수되며, 심장, 간, 폐 등의 주요 장기에 일정 기간 머무는 것으로 알려져 있으며, 화학 계면활성제인 SLS가 오랜 시간 사용하여 체내에 축적될 경우 체내 유전자 변형이나 만성질환 등을 일으킬 수 있다고 보고되고 있다⁶⁾. 여기서 주목해야 할 점은 대부분의 치약에서 계면활성제인 SLS가 함유되어 있는 점이라 할 수 있다. 현재 밝혀진 연구에 의하면 SLS가 함유되어 있는 치약 사용 시 구강 점막에의 염증을 야기하는 것으로 나타났으며, 피부의 염증⁷⁾, 미각 변화⁸⁾, 재발성 아프타성 구내염⁹⁾, 구강건조증¹⁰⁾과 구취²⁾ 등의 염증 반응을 일으키는 것으로 보고되고 있다.

이처럼 SLS는 구강 점막을 자극하여 구강 질환을 일으키는 직접적인 원인으로서 작용하는 것으로 알려지면서 국외에서는 SLS에 대한 연구가 활발하게 이루어지고 있다. 그러나 국내의 계면활성제에 대한 안전성에 대한 연구가 매우 부족한 실정이며, 이로 인해 최근 계면활성제의 안전성 부분에 대한 의문이 지속적으로 제기되고 있다. 심 등⁴⁾의 연구에 의해 구강 내 타액 분비량에 미치는 영향에 대한 연구는 보고되고 있으나 keratinocyte 세포에 직접 적용하여 세포 내 독성효과를 비교 분석한 논문은 아직 부족한 실정이다. 이에 본 연구에서는 합성 계면활성제인 SLS를 농도별로 처리하여 사람 각질형성세포인 HaCaT 세포와 쥐의 섬유모세포인 NIH-3T3 세포에 미치는 독성효과와 SLS의 처리 시간에 따른 세포의 변화에 미치는 영향을 알아보고자 본 연구를 시행하였다.

연구방법

1. 세포주 및 세포배양

본 실험에 사용한 HaCaT 세포는 사람 각질형성세포로서 부산대학교 치의학전문대학원 구강해부학교실에서 분양 받아 사용되었다. 쥐의 섬유모세포인 NIH-3T3 세포는 한국 세포주은행(KCLB No.21658)에서 분양 받아 사용하였다. 사람 각질형성세포인 HaCaT 세포는 10% fetal bovine serum(FBS), 쥐의 섬유모세포인 NIH-3T3 세포는 10% bovine calf serum(BCS), 항생제(100 µg/ml penicillin/streptomycin)을 첨가하고, 사용

된 배지는 각각 Dulbecco's modified eagle's medium(DMEM) 배지와 Roswell Park Memorial Institute(RPMI) 1640 배지를 이용하여, 37°C, 5% CO₂ 배양기를 이용하여 배양하였다.

2. SLS 처리 후 세포 생존율 측정

합성계면활성제 SLS가 세포의 생존율에 미치는 효과를 확인하기 위하여 water soluble tetrazolium salts(WST)-1을 이용하였다. 96-well plate에서 1 × 10⁴의 HaCaT 세포와 NIH-3T3 세포를 접종하여 24 시간 동안 배양하였다. HaCaT 세포와 NIH-3T3 세포의 IC₅₀ 을 측정하기 위하여 각각의 well에 SLS를 농도별로 0.005%, 0.0075%, 0.01%의 농도로 24, 48, 72 시간 동안 배양하였다. 세포의 생존율을 측정하기 위해 WST-1(Roche Applied Science, Mannheim, Germany) 시약을 37°C 배양기에서 2시간 동안 반응시켜 ELISA Reader (Sunrise Remote Control, Tecan, Austria)로 450nm 파장에서 흡광도를 측정하였다. 각각의 분석은 독립적으로 세 번씩 반복처리 하였다.

3. 세포 핵 변화 관찰

세포의 핵 변화를 관찰하기 위하여 100mm dish에 1 × 10⁶의 HaCaT 세포와 NIH-3T3 세포에 0.0075%의 농도로 SLS 처리 후 24 시간 동안 배양하였다. 24 시간 동안 SLS를 처리한 HaCaT 세포와 NIH-3T3 세포를 수거하여 Hoechst 33258(Sigma, St, Louis, Mo, USA) 시약을 4 µg/ml의 농도로 처리한 후 37°C humidity chamber 내에서 10분간 반응시켰다. 염색된 세포를 3회 phosphate buffered saline(PBS)로 세척하여, 형광현미경(Axioskop, Carl Zeiss, Germany)를 이용하여 관찰 후 400배의 배율로 촬영을 시행하였다.

4. 세포 성장 양상 관찰

HaCaT 세포와 NIH-3T3 세포의 24 Well plate에 1 × 10⁵로 Seeding하고, 37°C, 5%의 CO₂배양기에서 24 시간 배양 후, 0.0075%의 SLS를 처리하였다. SLS 처리 후 24, 48, 72 시간 동안 처리하여, 광학현미경(OLYMPUS optical Co., Melville, NY, USA)으로 100배의 배율로 세포를 관찰하였다.

5. 통계분석

본 연구에서는 통계 분석을 위해 IBM SPSS Statistics 22(SPSS Inc., NY, USA)을 이용하였으며 유의수준은 0.05로 하였다. 통계처리 방법은 비모수 검정 방법인 Kruskal-Wallis test를 사용하였으며, 사후검정법인 Tukey test를 사용하였다.

연구결과

1. 합성계면활성제 SLS가 세포 증식에 미치는 영향

SLS의 독성 농도를 알아보기 위해 각 농도별로 SLS를 사람 각질형성세포 HaCaT 세포와 쥐의 섬유모세포 NIH-3T3 세포에 24 시간 동안 처리하여 세포 생존율을 비교하였다. 본 실험에서 사용된 HaCaT 세포와 NIH-3T3 세포에 SLS를 처리하지 않은 대조군은 각각 100±0%의 생존율을 나타내었으며, 0.005% SLS 처리 시 HaCaT 세포에서 100±0.5%, NIH-3T3 세포에서 100±0.57%의 정상적인 생존율을 나타내었다. 0.0075%의 SLS 처리 시 HaCaT 세포와 NIH-3T3 세포에서 각각 45±1.15%, 43±2.0%의 생존율을 보였으며, 0.01%의 SLS 처리 시 HaCaT 세포와 NIH-3T3 세포에서 세포 생존율이 각각 2.9±0.55%와, 0±0.28%로 농도 의존적으로 생존율이 감소하였다($p < 0.05$) <Fig. 1>.

2. SLS에 의한 세포성장 억제 효과

SLS를 HaCaT 세포와 NIH3T3 세포에 0%, 0.005%, 0.0075%, 0.01%의 농도로 24 시간 처리 시 0.0075%의 농도에서 각 세포에 대한 50%의 저해농도(IC50)를 나타내는 것을 확인하였다. 본 결과를 바탕으로 0.0075%의 농도를 IC50으로 하여, 처리 시간에 따른 세포 생존율을 확인하기 위해 WST-1 Assay 방법을 이용하여 24, 48, 72 시간 SLS 처리 후 각 세포에 대한 세포성장 억제 효과를 확인 하였다. 그 결과 HaCaT 세포의 대조군에서는 100±0%, 24 시간 처리 시 45.3±1.0%, 48 시간 처리 시 13±0.57%, 72 시간 처리 시 10.7±0.57%의 생존율을 보였다. NIH-3T3 세포에서 각 시간대별로 SLS 처리결과 대조군은 100±0%, 24 시간 처리 시 43.1±1.22%, 48 시간 처리 시 36.4±1.54%, 72 시간 처리 시 15.5±0.57%의 생존율을 보였다($p < 0.05$) <Fig. 2>. 본 연구 결과 HaCaT 세포와 NIH-3T3 세포에서 0.0075% SLS 처리 시 시간 의존적인 형태로 세포의 성장을 억제시키는 것을 확인하였다.

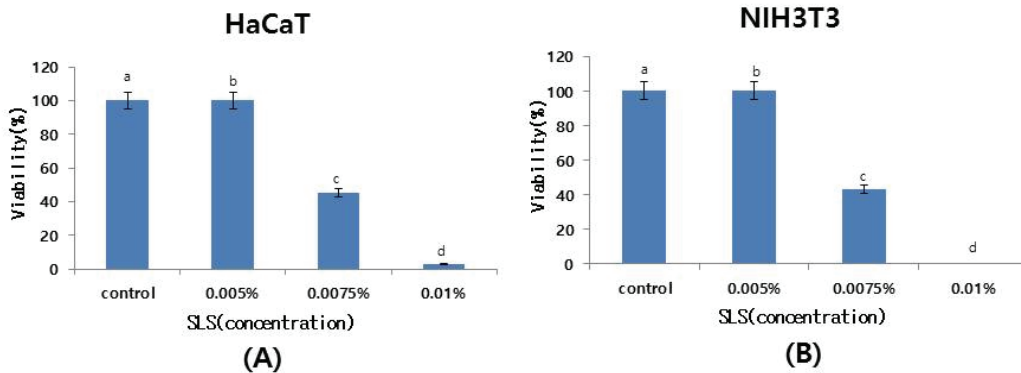


Fig. 1. WST-1 assay of HaCaT cells(A) and NIH-3T3 Cells(B) treated with SLS. HaCaT and NIH-3T3 cells treated with SLS control, 0.005%, 0.0075% and 0.01% for 24 h show the reduction of viability in a dose dependent manner(* $p < 0.005$).
a,b,c,d The same letter indicates no significant different by Tukey test at $\alpha = 0.05$.

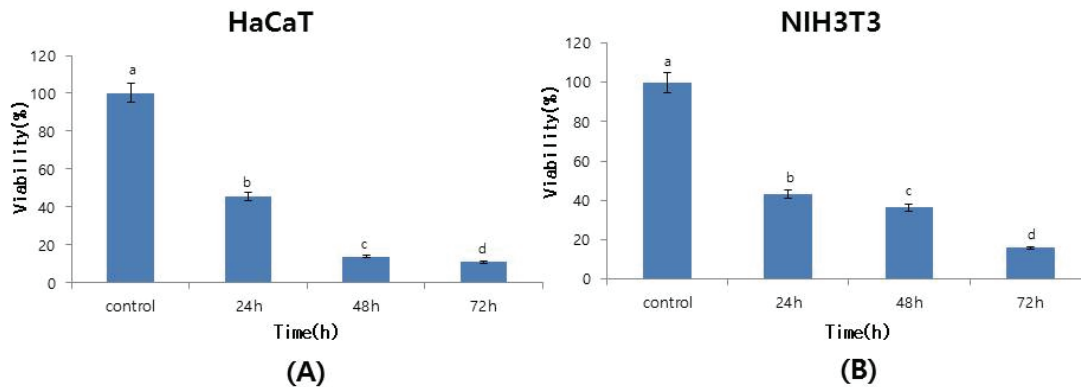


Fig. 2. WST-1 assay of HaCaT cells(A) and NIH-3T3 Cells(B) treated 0.0075% SLS at various time points HaCaT cells and NIH-3T3 cells show the reduction of viability in a time-dependent manner(* $p < 0.005$).
a,b,c,d The same letter indicates no significant different by Tukey test at $\alpha = 0.05$.

3. SLS 독성에 따른 HaCaT 세포자멸사 효과 확인

SLS가 HaCaT 세포와 NIH-3T3 세포에 세포자멸사를 유도하는지 확인하기 위하여 Hoechst 염색을 진행하였다. 0.0075% SLS를 24 시간 처리 후 핵의 형태 확인 결과 HaCaT 세포와 NIH-3T3 세포의 대조군은 세포핵의 형태는 둥근 모양을 유지하면서 정상적인 형태를 나타내고 있으나, SLS를 처리한 실험군에서 핵의 형태가 응축되고 조각진 형

태의 apoptotic body를 관찰할 수 있었다. 본 실험 결과 0.0075% SLS 처리 시 HaCaT 세포와 NIH-3T3 세포에 대한 독성 효과가 나타나는 것을 확인하였다<Fig. 3>.

4. SLS 처리 후 농도에 따른 HaCaT 세포의 형태학적 변화

0.0075%의 SLS를 HaCaT 세포와 NIH-3T3 세포에 처

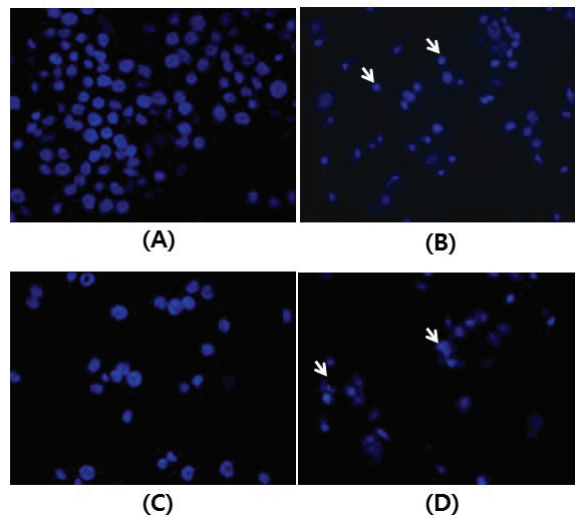


Fig. 3. Hoechst staining. HaCaT control cells(A), HaCaT cells treated with SLS(B), NIH-3T3 control cells(C) and NIH-3T3 cells treated with SLS(D). Image of HaCaT cells and NIH-3T3 cells treated with SLS at 0.0075% for 24 h show the nuclear condensation and fragmentation(arrows) compared to the control group(Magnification x100).

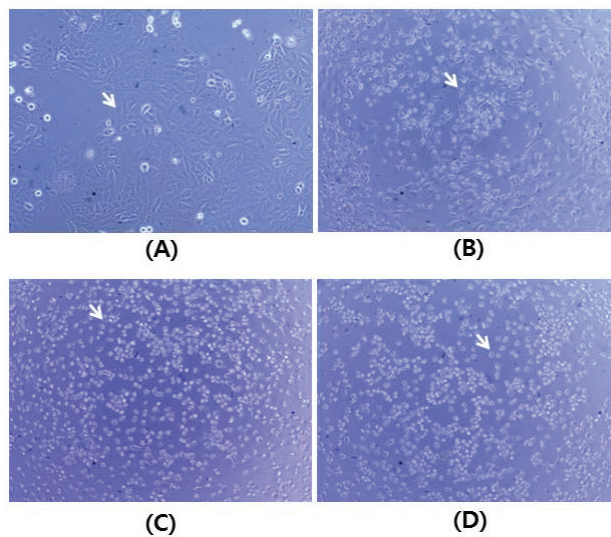


Fig. 4. Effects of 0.0075% SLS treatment on cell morphology and proliferation of HaCaT cells. Morphological changes induced by various SLS treatment times. The arrows indicate the change in cell morphology and detached cells. Control cells(A), Shape of the cells 24 h(B), 48 h(C), 72 h(D) after the treatment(Magnification x100).

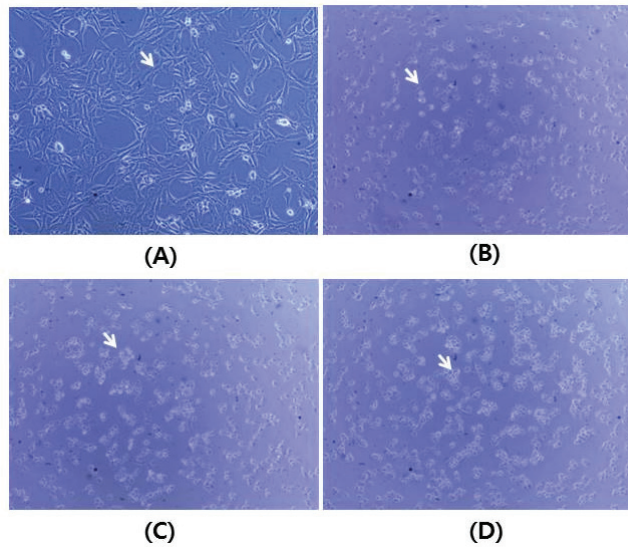


Fig. 5. Effects of 0.0075% SLS treatment on cell morphology and proliferation of NIH-3T3 cells. The arrows indicate the change in cell morphology and detached cells. Morphological changes induced by various SLS treatment times. Control cells(A), Shape of the cells 24 h(B), 48 h(C), 72 h(D) after the treatment(Magnification x100).

리 후 시간변화에 따른 각 세포의 형태학적 변화를 관찰하기 위하여 24, 48, 72 시간 후에 100배의 광학 현미경하에서 관찰하였다. 그 결과 HaCaT 세포의 대조군에서는 다각형의 전형적인 세포의 형태를 보이고 있으며, NIH-3T3 세포의 대조군에서는 전형적인 섬유모세포의 형태인 긴 방추형의 형태로 증식하는 것을 확인 하였다. 그러나 24 시간 SLS 처리 후 형태학적 변화가 나타났으며, 48, 72 시간 처리시간이 증가함에 따라 대조군과 비교 시 세포의 부착률이 감소하여 세포의 위축과 불규칙한 형태가 확인되었다(Fig. 4, Fig. 5).

총괄 및 고안

최근 건강과 외모에 대한 관심도 증가와 함께 일상생활에서 흔히 사용되고 있는 계면활성제에 대한 언론의 보도로 인해 계면활성제의 위험성이 대두되고 있다. 최근 치약 내에 포함되어 있는 파라벤이나 트리클로산 성분이 인체에 위해하다는 연구가 보고 되면서¹¹⁾, 치약에 함유된 계면활성제 성분에 대한 문제점이 꾸준히 지적되고 있다. 계면활성제인 SLS는 자극이 강하며, 이러한 자극은 강한 세정력으로 이어져 피부염 등의 염증을 일으키는 것으로 보고되고 있다¹²⁾. 현재 우리나라에서 시판 중인 치약의 SLS 성분은 일반적으로 2.2%의 농도로 첨가되어 있으며²⁾, SLS는 강한 알칼리성을 띠는 것으로 알려져 있다. 그러나 사람의 피부 보호막은 약산성의 특징을 가지며, 만약 강한 알칼리성을 가진 SLS가 피부에 접촉되고 깨끗이 제거되지 않을 경우 피부의

각질층을 손상시키고 염증을 일으키게 된다. 사람의 피부각질형성세포인 keratinocyte는 인체를 외부자극에 대해 보호하는 중요한 역할을 수행한다. 피부각질세포는 세균으로부터 피부를 보호하고 침입에 방어하며¹³⁾, 주위세포의 성장에도 많은 영향을 주며 각질형성세포는 표피층의 대부분에 존재하여, 세포 형성과 분열을 통해 각질층으로 올라와 탈락하게 된다¹⁴⁾. 섬유모세포는 주로 결합조직에 존재하며, 콜라겐을 생성·분해하거나 상처치유 시 창상 수축에 관여하여 치유를 촉진시키는 역할을 한다¹⁵⁾. 각질형성세포와 섬유모세포는 구강조직 손상 시 세포의 분화와 증식과 조직재생에 있어 매우 중요한 역할을 수행하며¹⁶⁾, 구강은 급격한 온도 변화 및 세균등으로 인해 손상이 많은 곳으로써 상처치유나 보호역할을 위한 각질형성세포와 섬유모세포의 역할은 매우 중요하다 할 수 있다. 그러므로 구강 세치제에 함유되어 있는 SLS가 포함되어 있는 함유량에 따라 각질형성세포나 섬유모세포를 손상시키지 않는 최적의 농도를 파악하기 위한 연구가 필요하다. 본 연구자는 이러한 근거를 바탕으로 본 실험을 통하여 SLS의 농도가 사람각질형성세포인 HaCaT 세포와 쥐의 섬유모세포 NIH-3T3 세포에 적용하여 세포에 미치는 독성 효과를 확인하고자 하였다. 본 연구에서 SLS를 처리한 HaCaT 세포와 NIH-3T3 세포에서 세포 성장에 대한 저해를 확인 결과 0.0075% SLS 처리 시 HaCaT 세포에서 45.2%, NIH-3T3 세포에서 43.1%의 생존율을 보였다(Fig. 1). 이러한 결과는 치약에서 흔히 사용되는 2.2%의 농도보다 훨씬 낮은 농도임을 감안할 때, 피부 보호 작용을 하는 각질형성세포와 세포의 증식과 이주에 중요한 역할을

하는 섬유모세포에 손상을 주는 것을 알 수 있다. 또한, SLS를 0.0075%의 농도로 HaCaT 세포와 NIH-3T3 세포에 처리 후 광학 현미경하에서 세포의 형태를 확인한 결과 24 시간 이후 세포의 부착률이 현저히 감소되고<Fig.4, Fig.5>, 세포의 형태가 대조군에 비해 수축되어 있는 것이 확인되었다. 이러한 양상은 세포의 수축이나 응축 등이 세포 자멸사의 대표적인 형태임을 감안할 때¹⁷⁻¹⁸⁾, 0.0075%의 SLS 농도에서 시행한 Hoechst 염색에서 나타난 세포의 응축과 분절은 저농도에서도 세포자멸사가 일어남을 알 수 있다. 이러한 연구결과는 Roll 등¹⁹⁾이 치은세포에 SLS를 처리 후 독성효과를 나타내는 연구결과와 본 연구결과를 비교하여 볼 때 유사한 결과를 나타내고 있다. 세포자멸사는 세포 스스로를 파괴하는 과정으로 DNA의 손상으로 인해 발생하게 되며, 세포의 비중감소, 염색체의 응축 및 쪼개짐 등의 형태학적 변화가 발생하게 된다²⁰⁾. 이렇듯, SLS를 HaCaT 세포와 NIH-3T3 세포에 처리 후 시간이 증가함에 따라 세포의 생존률과 세포의 형태학적 변화에 크게 영향을 미치는 것으로 나타난 본 연구 결과는 매우 중요한 부분을 시사한다. 일반인들은 치약에서 발생하는 많은 거품과 잇솔질을 끝낸 후 구강 내 남아있는 세치제를 완전히 헹궈내지 않거나, 치약을 구강내에 오랫동안 머금고 있는 행동 등을 시행함으로써 심리적으로 깨끗하고 개운하게 여기는 경우가 많다. 이러한 행동들은 구강점막을 손상시킬 수 있으며, 본 연구에서 제시한 SLS의 처리시간이 증가함에 따라 세포가 손상되는 연구결과는, SLS가 포함된 세치제 사용 시 구강 내 세치제가 잔류하는 상황이 지속될 경우 구강점막 세포의 파괴뿐만 아니라, 단백질 변성 등의 부작용을 유발할 수 있다. 더욱이 구강점막에 남아있는 SLS가 2차적으로 구강 내 염증이나 구강건조증을 야기하여 구취나 위장장애 등을 일으킬 수 있으므로²¹⁻²³⁾, 계면활성제가 포함된 구강세치제의 사용법에 대한 교육과 농도에 대한 기준이 철저히 수반되어야 한다. 그러나 현재 우리나라 치약에는 대부분 2.2%의 SLS를 함유하고 있으며²⁾, SLS의 독성 효과는 치약을 사용하는 성인보다 유해물질에 훨씬 취약한 영·유아 등의 성장기 어린이에게 사용 시 질병으로 이어져 문제를 야기할 수 있다. 물론 현재 시판중인 구강 세치제의 경우 구성성분 및 함유량 및 농도에 대한 안전성을 충분히 검증 후 판매가 되고 있으나 시중에 나와 있는 치약의 종류가 많아 일반인들이 치약에 포함되어 있는 계면활성제의 종류나 농도를 제대로 인지하기가 어려운 실정이다. 그러므로 치약에 포함되어 있는 계면활성제의 종류나 용량을 엄격하게 지도하고, 사용방법과 함께 치약 사용 후 주의 사항에 대한 충분한 홍보가 수반되어야 할 것이다.

그러므로 본 연구는 세포에 손상을 일으키지 않고 구강 세치제에 함유될 수 있는 SLS의 적정농도에 대한 기초자료서 제시할 수 있을 것으로 생각된다. 그러나 본 연구의 한계점으로서 어떠한 기전에 의해 세포가 손상되는지에 대한 자

세한 세포생물학적 연구가 수반되어야 하며 in vitro에서 시행한 실험 결과를 바탕으로 하여 동물실험을 통한 in vivo 실험 등을 시행하여 보다 면밀한 분석을 통해 SLS의 인체 내 안전성에 대한 연구가 지속적으로 수행되어야 할 것이다.

결론

본 연구는 일상생활에서 흔히 사용되는 계면활성제인 SLS를 이용하여 사람 각질형성세포인 HaCaT 세포와 쥐의 섬유모세포인 NIH-3T3를 이용하여 SLS의 처리농도 및 시간에 따른 세포에 미치는 손상에 영향을 미치는지 확인하고자 하였다.

1. 사람 각질형성세포인 HaCaT 세포와 쥐의 섬유모세포 NIH-3T3세포에 세포 독성을 측정하기 위하여 WST-1 assay법을 이용하여 세포의 생존율을 측정하였다. WST-1 assay를 통하여 SLS 농도가 0.0075%에서 IC50을 나타내는 것을 확인 하였으며, HaCaT 세포 및 NIH-3T3 세포에서 24, 48, 72 시간의 처리 시간에 따라 시간 의존적으로 세포 생존율이 감소하는 것을 확인 하였다.
2. SLS가 세포의 형태에 미치는 영향을 알아보기 위해 광학 현미경을 이용하여 세포의 형태를 확인한 결과, 대조군과 비교 시 세포의 형태학적 변화가 나타남을 확인하였다.
3. SLS 처리 시 HaCaT 세포와 NIH-3T3 세포에 미치는 손상과 세포자멸사를 알아보기 위해 Hoechst 33258 염색을 실시하여 핵의 변화를 관찰한 결과, 계면활성제인 SLS 0.0075% 처리 후 시간이 증가함에 따라 핵의 응축 및 쪼개짐의 현상이 나타나며, 세포의 손상을 유도한다는 것을 확인 하였다.

이상의 연구 결과 최근 연구에서 계면활성제가 인체에 영향을 미치는 연구가 보고되고 있으나, 본 연구를 통하여 손상을 일으키는 농도의 확인과 SLS가 사람 각질형성세포 및 쥐의 섬유모세포에 손상을 일으킨다는 것을 확인함으로써 인체의 계면활성제 사용의 적정 농도의 기준점을 제시할 것으로 사료된다.

References

1. Myers D. Surfactant science and technology. 3rd ed. New Jersey: John Wiley & Sons; 2006: 1-73.
2. Jeong HY, Kim YS, Jeong MA. Variations of oral cavity environment according to sodium lauryl sulfate concentration

- of toothpaste. *Jour.of KoCon.a* 2010; 10(8): 240-8.
3. Baker PJ, Coburn RA, Genco RJ, Evans RT. The in vitro inhibition of microbial growth and plaque formation by surfactant drugs. *J Periodontal Res* 1978; 13(5): 474-85. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1600-0765.1978.tb00200.x>
 4. Shim YS, Jeong MA, Jeong SH. The change of salivary and oral bacteria amount by composition of SLS contents of toothpaste. *J Korea Acad Industr Coop Soc* 2010; 11(9): 3341-6.
 5. Patel AR, Joshi VY. Evaluation of SLS: APG Mixed surfactant systems as carrier for solid dispersion. *AAPS PharmSciTech* 2008; 9(2): 583-90. <http://dx.doi.org/10.1208/s12249-008-9093-1>.
 6. Elder RL. Final report on the safety assessment of sodium lauryl sulfate and ammonium lauryl sulfate. *J Am Coll Toxicol* 1983; 2: 127-81. <http://dx.doi.org/10.3109/10915818309142005>.
 7. Shin KY, Park CW, Lee CH. Perturbation and recovery of the skin barrier function after tape stripping and sodium lauryl sulfate irritation. *Korean J Dermatol* 2000; 38(2): 183-90.
 8. Fakhry SS, Din C, Nathoo SA, Gaffar A. Clearance of sodium lauryl sulphate from the oral cavity. *J Clin Periodontol* 1997; 24(5): 313-7.
 9. Herlofson BB, Barkvold P. Sodium lauryl sulfate and recurrent aphthous ulcers: A preliminary study. *Acta Odontol Scand* 1994; 52(5): 257-9.
 10. Healy CM, Paterson M, Joyston-Bechal S, Williams DM, Thornhill MH. The effect of a sodium lauryl sulfate-free dentifrice on patients with recurrent oral ulceration. *Oral Dis* 1999; 5(1): 39-43.
 11. Yueh MF, Taniguchi K, Chen S, Evans RM, Hammock BD, Karin M, et al. The commonly used antimicrobial additive triclosan is a liver tumor promoter. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2014; 111(48): 17200-5. <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.1419119111>.
 12. Lee CH, Maibach HI. The sodium lauryl sulfate model: an overview. *Contact Dermatitis* 1995; 33(1): 1-7.
 13. Chiller K, Selkin BA, Murakawa GJ. Skin microflora and bacterial infections of the skin. *J Investig Dermatol Symp Proc* 2001; 6(3): 170-4. <http://dx.doi.org/doi:10.1046/j.0022-202x.2001.00043.x>
 14. Andreadis ST, Hamoen KE, Yarmush ML, Morgan JR. Keratinocyte growth factor induces hyperproliferation and delays differentiation in a skin equivalent model system. *FASEB J* 2001; 15(6): 898-906.
 15. McAnulty RJ. Fibroblasts and myofibroblasts: their source, function and role in disease. *Int J Biochem Cell Biol* 2007; 39(4): 666-71.
 16. Pajoum Shariati SR, Shokrgozar MA, Vossoughi M, Eslamifar A. In vitro co-culture of human skin keratinocytes and fibroblasts on a biocompatible and biodegradable scaffold. *Iran Biomed J* 2009; 13(3): 169-77.
 17. Choi BBR, Kim GC. Apoptotic effect of *Pseudomonas aeruginosa* exotoxin A in human tongue squamous cell carcinoma(SCC) 25 cells. *J Korean Soc Dent Hyg* 2015; 15(4): 171-7.
 18. Choi BBR. Effect of autophagy in human tongue squamous cell carcinoma SCC 25 cells from *Scutellariae Radix* by ethanol extract. *J Korean Soc Dent Hyg* 2014; 14(2): 287-92.
 19. Roll EB, Dahl JE, Runnigen G, Morisbak E. In vitro cell death induced by irradiation and chemicals relevant for dental applications; dose-response and potentiation effects. *Eur J Oral Sci* 2004; 112(3): 273-9.
 20. Kang SW. Role of Reactive Oxygen Species in Cell Death Pathways. *Hanyang Med Rev* 2013; 33(2): 77-82.
 21. Rantanen I, Jutila K, Nicander I, Tenovuio J, Söderling E. The effects of two sodium lauryl sulphate-containing toothpastes with and without betaine on human oral mucosa in vivo. *Swed Dent* 2003; 27(1): 31-4.
 22. Ahlfors EE, Dahl JE, Lyberg T. The development of T cell-dominated inflammatory responses induced by sodium lauryl sulphate in mouse oral mucosa. *Arch oral biol* 2012; 57(6): 796-804. <http://dx.doi.org/10.1016/j.archoralbio.2011.11.005>.
 23. Ahlfors E, Czerkinsky C. Contact sensitivity in the murine oral mucosa. I. An experimental model of delayed-type hypersensitivity reactions at mucosal surfaces. *Clin Exp Immunol* 1991; 86(3): 449-56.