

## 전부도재관용 레진시멘트의 생체적합성에 관한 연구

원광대학교 치과대학 치과보철학교실 및 원광치의학연구소

김광준 · 김성훈 · 진태호

### I. 서 론

최근 치과재료의 발전과 심미적 보철에 대한 환자의 요구가 날로 증가함에 따라 전부도재관 수복은 일반적인 보철 처치의 하나가 되었다. 금속도재관에 비해 우수한 심미성을 가지고 있는 여러 가지 전부도재관 시스템이 개발되었으나 자연치와 유사한 심미성, 저작력에 견디는 충분한 강도, 변연 적합성 등의 한계로 인해 모든 시스템이 계속 사용되고 있지는 않다.<sup>1,2)</sup> 충분한 강도와 제작의 용이성 등에 대한 요구로 현재 널리 사용되는 전부도재관 시스템으로는 슬립 주조법을 사용하는 In-Ceram(Vita Zahnfabrik, Bad Säckingen, Germany)시스템과, 열가압 기술을 이용하는 IPS-Empress 2(Ivoclar, Liechtenstein)시스템, 카피밀링법을 사용하는 Celay(MikronaAG, Spreitenbach, Switzerland)시스템, CAD/CAM시스템 등이 있다.

보철물의 유지를 위한 접착제로는 인산아연 시멘트, polycarboxylate시멘트, glass ionomer 시멘트, 접착성 레진 시멘트 등이 사용된다. 1878년 처음 소개된 인산아연 시멘트는 높은 압축강도를 보이는 반면 피막도가 크고, 접착 시 인산 함유로 인한 치수 자극으로 인하여 생체적합성이 떨어져 오늘날에는 그 사용이 점차 감소되고 있다. Polycarboxylate시멘트는 인산아연 시멘트에 비해 인장강도는 높고, 24시간 후 압축강도는 인산아연 시멘트에 비해 낮으나 polyacrylic acid의 분자크기가 커서 상아세관으로 침투되지 않아 치수자극을 거의 유발하지 않는 것으로 알려져 있다. 수복재료로 소개된 glass ionomer시멘

트는 점차적으로 접착용으로 사용되고 있으며 이차 우식에 대한 저항성을 보여주나 수분에 노출 시 약하다는 것과 건조 시 균열되는 단점이 있다. 접착성 레진 시멘트는 수복용 레진에 비해 filler함량이 적고 점조도가 낮다는 점은 다르나, 인장강도가 매우 높아 통상적인 시멘트로는 높은 유지력을 얻기 어려운 도재전장관이나 접착성 가공의치의 접착 시 사용되며 치질과 화학적으로 강력하게 결합하는 성질로 인해 점차 사용이 증가하고 있는 추세이다.

치과용 시멘트의 조직반응에 대한 연구는 치수조직반응에 관한 것과 치은조직반응에 관한 것으로 대별할 수 있으며 치은조직반응은 보철물의 치관변연을 치은연하에 설정했을 때 큰 중요성을 가진다. Waerhaug<sup>3)</sup>는 적합성이 양호한 치관과 지대치 간에 개재하는 소량의 시멘트라 할 지라도 치은에 자극을 초래할 수 있으며 이 자극은 화학적인 자극과 세균성 이물의 침착으로 일어난다고 하였다. 윤<sup>4)</sup>은 임시 접착용 시멘트가 치수조직에 미치는 영향에 대한 연구에서 보철물을 임시 접착할 때 치수 보호를 위하여 calcium hydroxide시멘트가 양호하게 사용될 수 있다 하였고, 이<sup>5)</sup>는 치관보철물 주변에 저류된 시멘트가 치은조직에 미치는 영향에 관한 실험적 연구를 통해 치관보철물 주변에 저류된 시멘트는 치은에 심한 염증반응을 일으키며, 인산아연시멘트가 polycarboxylate 시멘트 보다 더 심한 염증을 나타내므로 치관보철물 장착 후 치은열구 내에 저류된 시멘트는 완전히 제거되어야 한다고 하였다. 이등<sup>6)</sup>도 인산 ESTER계 접착성 시멘트의 치수반응에 관한 실험적 연구를 통해 치수자극을 차단해주는 이장제의 사용

을 역설하였다. 그러나 전부도재관에 사용되는 복합 레진 시멘트 종류에 따른 생체적합성에 대한 비교연구는 아주 희소했다.

인공치관과 수복치아가 시멘트로 접착됨으로서 생기는 변연부의 적합성과, 잉여 시멘트의 잔존유무, 치주상태는 향후 보철치료의 성공에 영향을 주게 되는데<sup>7-10)</sup>, 수복물 변연과 삭제된 지대치의 변연 오차를 의미하는 변연 적합도는 보철물의 성공여부를 평가하는 중요한 요소 중의 하나로<sup>11)</sup>, 보철물의 이상적인 변연 형태는 심미적이며 우수한 적합도와 변연부에 치태 침착을 억제하는 형태이나 이런 요건을 만족시켜주는 보철물을 제작하기는 매우 어렵다.<sup>12)</sup> 물리적, 화학적 자극 또는 세균에 의해 손상 받은 치아를 보다 이상적으로 회복시켜 주려는 노력은 오래 전부터 진행되어져 왔다.<sup>6)</sup>

치수반응을 연구하는 것은 치과재료의 독성뿐만 아니라 여러가지 치아 수복재 자체의 축적 때문일 수도 있어 치과재료의 독성을 추정하는데 많은 요인이 공존한다는 것을 알 수 있다. 세포배양에서 치아 수복인자를 재현하는 것이 불가능하기 때문에 생체의 구강조직 생체적합성 측정이 생체 내 동물 생체 적합성 이식검사와 일치하지 않는 다른 중요한 원인이 될 수 있다.<sup>13-16)</sup> 동물의 생체 내 독성검사는 치아와동 내에 재료이식을 통해 다 인자를 검사해 볼 수 있는 가장 좋은 접근법이지만 생체 외 스크린 검사 또한 요구된다.

본 연구의 목적은 심미적 이유로 그 수요가 증가하고 있는 전부도재관의 합착을 위한 레진 시멘트가 생체조직에 미치는 영향을 평가하기 위해 수종의 레진 시멘트를 사용하여 독성 검사법을 이용하여 정상 구강각화상피세포, 치은섬유모세포 및 Human Papilloma virus 16으로 불멸화한 치은섬유모세포에서 세포활성을 비교분석하고, 백서 절치 절단면에 시멘트를 적용시킨 후 기관 배양하여 광학 현미경을 통한 형태학적 특성을 규명하고자 하였다.

## II. 연구재료 및 방법

### 1. 전부도재관용 시멘트의 준비

전부도재관의 접착용으로 사용되는 레진 시멘트인 Panavia F(Kuraray Co., Ltd. Japan), Variolink

II (Vivadent, Liechtenstein), Bistite II (Bistite dual cure resin cement-clear, Tokuyama Soda Co., Japan)를 사용하였다. 시멘트 희석은 Kaga<sup>17)</sup>의 방법을 변형하였는데 시멘트를 제조사의 사용방법에 따라 혼합해 경화시켜 막자사발에 미세하게 간 후, 10g의 시멘트를 10ml의 DMSO(Dimethyl Sulfoxide)에 첨가하여 혼합물을 5분간 강하게 저은 다음 0.45 $\mu$ m 필터(Milipore, Bedford, USA)로 여과하여 0.1%에서 10%까지 연속 농도의 희석액을 세포배지용액에 희석해 준비하였다.

### 2. 세포배양

1) 정상 구강각화상피세포(NHOK, normal human oral keratocyte)

교정치료를 목적으로 발거한 건강한 제1 소구치의 치은 연조직을 채취하여 300Unit/ml Penicillin, 300 $\mu$ g/ml Streptomycin, 1.5 $\mu$ g/ml Amphotericin-B가 포함된 HBSS(Hanks Balanced Salt Solution, Gibco, Grand island, New York, USA)로 5회 세척한 후 dispase(grade II; 2.4mg/ml, Boehringer Mannheim, Germany)로 60분간 5% CO<sub>2</sub>가 포함된 37 $^{\circ}$ C 배양기에 넣어 하방 결체 조직으로부터 상피를 분리하고, 단일 세포로 용해하기 위해 trypsin에 60분간 37 $^{\circ}$ C로 처리하여 PBS(Phosphate Buffered Solution)로 세척하고 Keratocyte Growth Medium (KGM, supplement with pituitary extract, Clonetics, USA)을 이용하여 60mm 배양접시에 5 $\times$ 10<sup>4</sup>농도로 배양하였다. NHOK가 증식되어 완전히 배양접시를 덮는 단층이 형성되면 0.05% Trypsin/0.02% EDTA(Ethylenediaminetetraacetic acid)로 처리하여 배양접시로부터 세포를 박리하고 1:3으로 계대 배양하여 3-4 세대의 세포를 사용하였다.

2) 치은섬유모세포(GF, gingival fibroblasts)

치은섬유모세포의 배양을 위한 결체 조직은 교정치료를 시행한 소구치나 제3 대구치의 건강한 치주 인대를 절제하여 얻었다. 치은섬유모세포의 배양을 위하여 채취한 치은조직을 3회 세척하고 배양접시에 넣은 후 1 $\times$ 1 $\times$ 1mm 크기로 세절된 조직편 8~10개를 100mm크기의 세포배양용 접시에 10% Fetal Bovine Serum(FBS, Gibco/BRL,

Grand Island, NY, U.S.A)과 100Unit/ml Penicillin, 100 $\mu$ g/ml Streptomycin이 포함된 DMEM(Dulbeccos Modification of Eagles Medium)을 넣고, 37 $^{\circ}$ C, 100% 습도, 5% CO<sub>2</sub> 공기혼합 배양기에서 배양하였다. 치은섬유모세포가 조직절편으로부터 증식되어 완전히 배양접시를 피개하는 단층이 형성된 후 100mm 세포 배양용 접시를 이용하여 계대배양 하였다. 본 실험에서는 성장 특성을 명확히 비교하기 위하여 동일 환자, 동일 세대의 세포를 이용하였으며 7세대 이상의 세포는 사용하지 않았다.

### 3) 불멸화된 치은섬유모세포(IGF, immortalized gingival fibroblasts)

HPV16 genome의 full length를 포함하고 있는 pBR322로부터 E6와 E7의 full length(약 700bp)를 클론화 하여 Hygromycin B resistance가 있는 pBabe vector의 BamHI과 Sal I 부위에 삽입한 후, pBabe HPV 16 E6/E7 plasmid DNA를 정제하고 에탄올 침전, 정량화와 함께 BamHI과 Sal I로 확인 하였다. Transfection 전에 G418 resistance가 있는 peak 8 GFP(green fluorescent protein)을 일차 배양한 치은섬유모세포에 transfection하여 효율을 검사한 후, Lipofectamine plus kit(Gibco/BRL, Grand Island, NY, USA)를 이용하여 제조회사의 추천에 따라 60mm 세포 배양용 접시에 치은섬유모세포가 70-80%의 성장에 도달했을 때 pBabe E6/E7과 음성 대조군으로 pBabe vector만을 transfection 하였다. 2일 후 세포에 10 $\mu$ g/ml의 Hygromycin (Boehringer-Mannheim, Indianapolis, IN, USA)을 2주간 untransfected 대조군 세포가 죽을 때까지 처리하여, Hygromycin 저항균주(resistant colony)를 클론화 하고 30계대 배양을 한 후 실험에 이용하였다.

### 3. 세포활성도 측정

계대 배양된 NHOK, GF, IGF세포를 0.25% Trypsin/EDTA로 떼어내어 혈구계수기로 세포수를 세어 24-well plate의 각 well당 1 $\times$ 10<sup>4</sup>개의 세포가 들어가도록 분주하였다. 세포들이 부착할 수 있도록 1일간 5% CO<sub>2</sub>, 100% 습도의 37 $^{\circ}$ C 배양기에서 배양한 후 부착되지 않은 세포를 제거하기 위해 배지를

교환하여 시멘트의 연속적 희석농도에 따라 첨가하고 1, 3, 5일 동안 배양하여 대조군 에는 증류수를 넣었다. 각각의 시간이 경과된 후 생리 식염수로 용해한 MTT(3-(4,5-dimethyl-2-thiazolyl)-2,5-diphenyl-2H-tetrazolium bromide, Sigma Chemical Co. USA) 용액 300 $\mu$ 씩을 각각의 well에 첨가하여 4시간 동안 배양하였다. 배양 후 배지를 제거하고 200 $\mu$ 의 DMSO(dimethyl sulfoxide, Junsei, Japan)를 첨가하여 형성된 formazan 결정을 용해시킨 후, 세포 활성도를 보기 위해 96-well plate 상으로 옮겨서 ELISA analyser (Spectra MAX 250, Molecular Devices Co., USA)로 540nm에서 흡광도를 측정하였다.

### 4. IC<sub>50</sub> 환산

농도-MTT 반응커브를 이용하여 50%의 세포성장을 억제하는데 요구되는 시멘트의 농도(IC<sub>50</sub>)를 결정하였다.

### 5. 백서 절치 박편 기관배양(tooth slice organ culture)

#### 1) 치아수집 및 와동형성

체중 200g 내외의 생후 1개월된 Sprague-Dawley계 백서 5 마리를 희생시킨 후 하악 절치를 얻어 70% 에탄올로 수세하고 DMEM 배지에 유지시켰다. 와동형성은 와동의 위치와 정확한 삭제를 위해 절치의 협순면에 ISO 001006006 Ash steel bur(Dentsply, USA)를 이용해 8000rpm에서 1mm 두께로 시행하였고, 와동형성직후에 상아질 smear layer는 17% EDTA(pH 8)를 적용해 제거하였으며 와동이 형성된 치아조각을 횡단 2mm간격으로 잘라 치수 세포독성 검사에 사용하였다.

#### 2) 치아박편 기관배양

각각의 치아조각은 자른 직후 배지에 여러번 수세하였고 배양액(100 $\mu$ )에는 DMEM, vitmain C(0.15 mg/ml), 10% heat inactivated fetal calf serum, L-glutmaine, 1% Penicillin/Streptomycin solution 과 1% low melting point agar 가 포함되었다. 각각의 시멘트를 치아조각의 와동형성부위에 적용시킨

후에, 치아가 포함된 배양젤은 반지름 12 mm의 0.2 $\mu$ m pore size membrane으로 제작된 millicell에 casting 한 후 37 $^{\circ}$ C 배양기에서 30분간 중합시키고 0.8 $\mu$ m Millipore 필터위에 지지하게 하여 35mm 배양접시에서 DMEM에 100 IU penicillin, 100 $\mu$ g/ml streptomycin, 0.6mg/ml L-glutamine과 함께 10% FBS가 포함된 배지에 3ml를 넣은 후 5% CO<sub>2</sub>, 37 $^{\circ}$ C 배양기에서 2일과 10일간 배양하였다. 배지는 2-3일간격으로 교환하였고 2일과 10일 배양 후에는 10% 중성 포르말린에 고정하였다.

### 3) 조직표본 제작 및 광학현미경관찰

조직학적 관찰을 위하여 포르말린 용액에 2일간 고정시킨 각각의 표본을 nitric acid방법으로 탈 석회화를 시행하여 파라핀으로 포매하고 4 $\mu$ m 두께로 조직 절편을 만들어 Hematoxylin-Eosin 염색을 실시한 후 광학현미경을 통하여 치수부위에 세포수를 관찰하였다.

## III. 결 과

### 1. MTT 검사에 따른 전부도재관용 시멘트의 세포 독성 평가

#### 1) 정상 구강각화상피세포에서의 세포독성

NHOK세포의 배양1일군에서 각 시멘트의 0.1% 농도에 따른 세포활성 변화는 Bistite에서 대조군의 90%가 활성을 보였고, Panavia 99%, Variolink는 92%로 큰 차이가 없었으며, 0.5%농도의 경우에는 Bistite 77%, Panavia 60%, Variolink는 84%를 보였으며, 1%농도 투여 시 Bistite 32%, Panavia 47%, Variolink는 71%를 보여 각 시멘트가 0.5%이상에서 급격하게 농도 의존적으로 세포활성감소가 관찰되었으며 Variolink의 세포독성이 가장 적었다. 5%농도 투여 시 Bistite 32%, Panavia 12%, Variolink 42%의 활성을 보여 Variolink의 독성이 5%에서도 가장 적었지만 10%농도 투여 시는 시멘트 종류에 관계없이 95%정도의 세포활성감소를 보였는데 Bistite 11%, Panavia 9%, Variolink는 5%의 활성만이 남아있어 10%의 고농도에서는 90%정도의 NHOK 세포활성감소가 관찰되었다 (Fig. 1).

NHOK세포의 배양3일군에서도 1일군과 유사한 형태를 보이며 배양기간의 증가에 따라 활성감소를 나타냈는데 0.1% 농도에 Bistite 78%, Panavia 86%, Variolink 85%로 시멘트를 첨가하지 않은 대조군에 비해 세포활성감소가 나타났다. 0.5% 농도의 경우에는 Bistite 56%, Panavia 61%, Variolink 89%를 보였고 1%농도 투여 시 Bistite는 30%, Panavia 43%, Variolink 54%를 보였으며 5%농도의 경우 Bistite 6%, Panavia 5%, Variolink 3%의 세포활성을 보였으며 10%농도 투여 시는 Bistite 7%, Panavia 4%, Variolink는 2%의 세포활성만을 보여 시멘트 종류에 관계없이 5%이상의 농도 투여 시는 90%이상의 세포활성감소가 나타났다(Fig. 2).

NHOK세포의 배양5일군에서는 1일군 및 3일군에 비해 세포활성감소가 더욱 심하게 나타났는데 0.1%농도 시 Bistite 63%, Panavia 86%, Variolink는 92%를 보여 Bistite는 0.1%농도하의 배양5일군에서는 대조군 보다 37%의 세포감소가 나타날 정도의 독성을 보였다. 0.5% 농도의 경우 Bistite 44%, Panavia 61%, Variolink는 88%의 세포활성을 보여 Bistite가 가장 높은 세포독성을 보였다. 1%농도 시 Bistite 14%, Panavia 43%, Variolink는 54%를 보여 Bistite는 Variolink보다 4배정도의 NHOK세포 활성감소가 나타났다. 5%농도 시는 Bistite 5%, Panavia 4%, Variolink 7%의 세포활성감소가 관찰되었으며 10%농도투여에도 Bistite 4%, Panavia 4%, Variolink는 8%의 활성을 보여 시멘트 종류에 관계없이 90%정도의 세포활성감소를 보였다(Fig. 3).

연구성적에 따르면 NHOK세포에서 시멘트 종류에 따른 세포활성변화는 시멘트의 농도 및 배양시간에 의존하였으며 0.5%이상에서 급격하게 농도 의존적으로 세포활성감소가 관찰되었고 Variolink의 세포독성이 가장 적었고, 5%이상의 농도에서는 배양기간 및 시멘트의 종류에 관계없이 90%이상의 세포활성감소가 나타났고 전반적으로 Bistite의 세포독성이 가장 높았다.

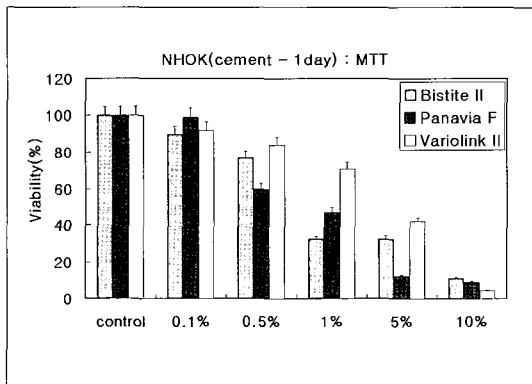
#### 2) 치은섬유모세포에서의 세포독성

GF세포의 배양1일군 0.1%농도에서 Bistite는 대조군의 106%의 활성을 보여 대조군과 차이가 없었고, Panavia는 91%, Variolink는 101%를 보였다.

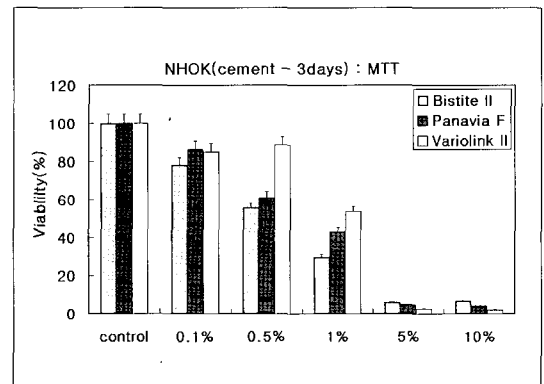
0.5% 농도의 경우에는 Bistite 89%, Panavia 87%, Variolink 103%를 보였으며, 1%농도 투여 시 Bistite 94%, Panavia 79, Variolink는 103%를 보여 Variolink는 0.1%에서 1%농도까지에도 전혀 세포독성이 나타나지 않았다. 5% 투여 시 Bistite는 대조군의 75%, Panavia 63%, Variolink 75%의 활성을 보여GF세포에서는 5%에서 본격적으로 세포활성 감소가 나타났으며 10%농도 투여 시 Bistite는 21%, Panavia 12%, Variolink는 15%의 세포활성만이 남아있었다(Fig. 4).

GF세포의 배양3일군에서도 1일군과 유사한 형태

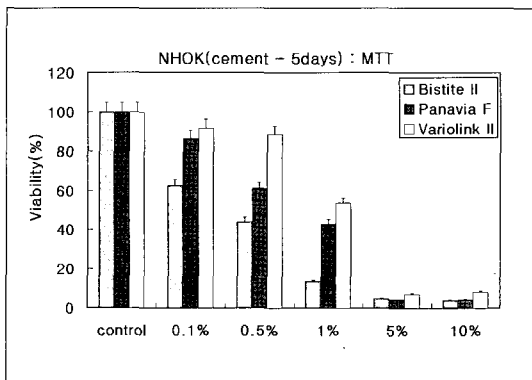
를 보였으며 0.1%시멘트 농도에 따른 세포활성차이는 Bistite 78%, Panavia 95%, Variolink 109%로 Bistite에서만 독성이 나타났으며 0.5%농도의 경우에는 Bistite 83%, Panavia 103%, Variolink는 98%를 보였는데 1%농도 시 Bistite 94%, Panavia 79%, Variolink 103%를 보여 각시멘트의 0.1%에서 1%농도까지 Variolink만이 세포독성이 전혀 없었다. 5%투여 시 Bistite 75%, Panavia 63%, Variolink는 75%의 세포활성을 보였고 10% 농도투여 시 Bistite 3%, Panavia 3%, Variolink는 2%의 세포활성만이 남아 10%농도 하에서 3일 배양시에는 시



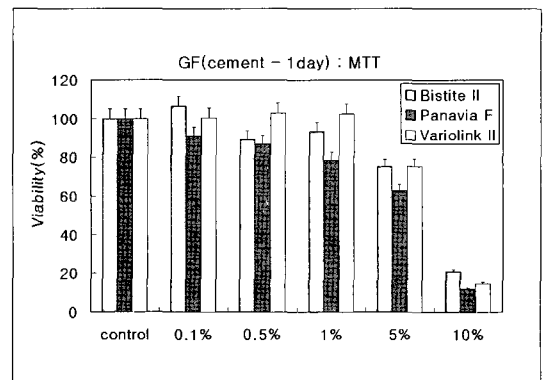
**Fig. 1.** Cell viability of normal human oral keratocyte according to type & concentration of cements(after 1 day cultivation)



**Fig. 2.** Cell viability of normal human oral keratocyte according to type & concentration of cements(after 3 days cultivation)



**Fig. 3.** Cell viability of normal human oral keratocyte according to type & concentration of cements(after 5 days cultivation)



**Fig. 4.** Cell viability of gingival fibroblasts according to type & concentration of cements(after 1 day cultivation)

멘트 종류에 관계없이 98%정도의 세포활성감소를 보였다(Fig. 5).

GF세포의 배양5일군에서도 1일군과 유사한 형태를 보여 0.1% 농도에 따른 세포활성에서 Bistite 110%, Panavia 92%, Variolink는 116%로 시멘트를 첨가하지 않은 대조군 보다 Variolink에서는 오히려 증가하였고, 0.5% 농도의 경우 Bistite 94%, Panavia 89%, Variolink는 114%를 보였으며 1% 농도투여 시 Bistiite 94%, Panavia 89%, Variolink는 125%를 보여 0.1%에서 1%농도투여 시 Variolink에서는 오히려 세포활성을 보였다. 5%투여 시는 Bistite 6%, Panavia 5%, Variolink 10%의 세포활성을 보여 종류에 관계없이 세포활성의 큰 감소가 관찰되었으며 10%농도투여에도 Bistite 3%, Panavia 3%, Variolink는 6%의 활성만이 남아 95%정도의 세포활성감소를 보였다(Fig. 6).

따라서 GF세포에서 시멘트 종류에 따른 세포활성 감소는 시멘트의 농도 및 배양시간에 의존하였고, 0.1%에서 1%까지의 농도에서 Variolink는 오히려 세포활성 증가가 관찰되었으며 Bistiite와 Panavia는 세포활성감소가 크게 나타나지 않았지만 5% 이상 농도에서는 배양기간 및 시멘트의 종류에 관계없이 95%이상의 세포활성감소가 나타났고 전반적으로 Bistiite의 세포독성이 가장 많았으며 Variolink가 가장 세포독성이 적었다.

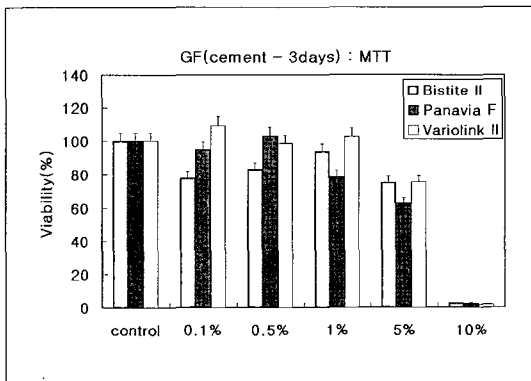


Fig. 5. Cell viability of gingival fibroblasts according to type & concentration of cements(after 3 days cultivation)

### 3) 불멸화된 치은섬유모세포에서의 세포독성

IGF세포의 배양1일군에서 Variolink의 활성이 0.1%에서 5%까지 투여시 세포활성이 가장 좋은 즉, 가장 적은 세포독성을 보였는데 0.1%농도에서는 Bistite 93%, Panavia 96%, Variolink는 98%로 세포활성도에 큰 차이가 없었고, 0.5% 농도의 경우 Bistite 89%, Panavia 95%, Variolink 84%를 보였으며, 1%농도 시 Bistiite 107%, Panavia 99%, Variolink 88%를 보여 각시멘트의 0.1%에서 1%농도 투여 시는 세포활성에 큰 변화를 보이지 않다가 5%투여 시는 Bistite 11%, Panavia 10%, Variolink 34%의 세포활성을 보여 Variolink의 독성이 가장 적음을 알 수 있었지만 10%농도 투여 시는 시멘트 종류에 관계없이 95%이상의 세포활성감소를 보였는데 Bistite는 5%, Panavia 4%, Variolink는 3%의 활성만이 남아있었다(Fig. 7).

IGF세포 배양3일군의 0.1%농도에서 세포활성 차이는 Bistite 98%, Panavia 97%, Variolink는 104%로 대조군과 큰 차이가 없었고, 0.5% 농도의 경우 Bistite 98%, Panavia 94%, Variolink 108%를 보였으며 1%농도 시 Bistiite 89%, Panavia 73%, Variolink는 100%를 보여 0.1%에서 1%농도까지는 세포활성에 큰 변화를 보이지 않았고 Variolink는 IGF 3일 배양 시 0.1과 0.5%, 1%농도에서 오히려 세포활성증가를 보여 가장 독성이 적었다. 5%투여 시에 Bistite 3%, Panavia 4%, Variolink

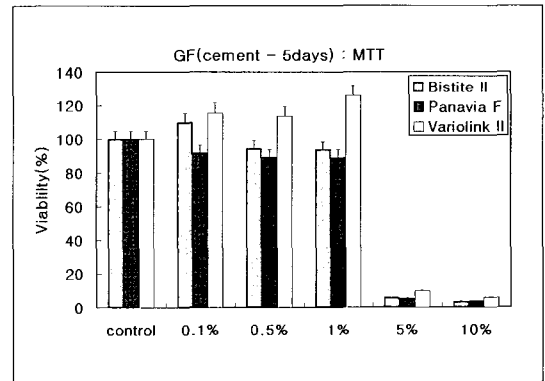
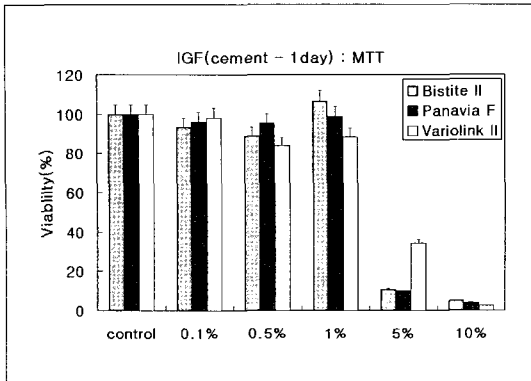
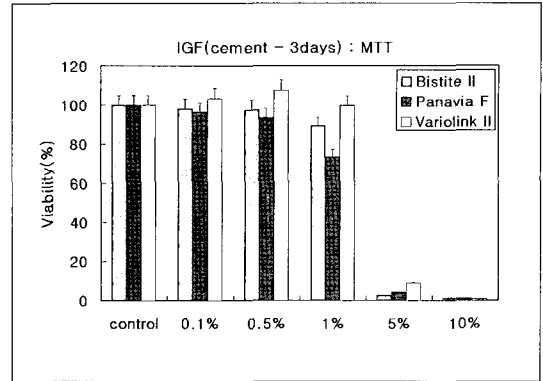


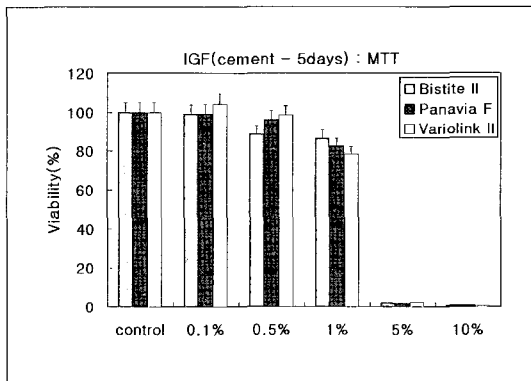
Fig. 6. Cell viability of gingival fibroblasts according to type & concentration of cements(after 5 days cultivation)



**Fig. 7.** Cell viability of immortalized gingival fibroblasts according to type & concentration of cements(after 1 day cultivation)



**Fig. 8.** Cell viability of immortalized gingival fibroblasts according to type & concentration of cements(after 3 days cultivation)



**Fig. 9.** Cell viability of immortalized gingival fibroblasts according to type & concentration of cements(after 5 days cultivation)

9%의 활성을 보여 Variolink의 독성이 가장 적게 나타났지만 10%농도 시 Bistite 1%, Panavia 1%, Variolink는 1%의 활성을 보여 98%이상의 세포활성 감소를 보였다(Fig. 8).

IGF세포의 배양5일군에서도 1일군과 유사한 형태를 보여 1%까지는 세포활성변화가 적다가 5%농도부터 95%이상의 세포활성감소를 보였는데 0.1% 농도에 Bistite 99%, Panavia 99%, Variolink는 104%로 대조군과 차이가 없었고, 0.5% 농도의 경우 Bistite 89%, Panavia 96%, Variolink는 99%를 보여 0.5%농도 시 Bistite가 가장 세포독성이 많았다. 1% 농도투여 시 Bistite 87%, Panavia 83%,

Variolink는 79%의 세포활성을 보였고 5%투여 시 Bistite 2%, Panavia 2%, Variolink는 2%의 세포활성을 보였으며 10%농도 시 Bistite 1%, Panavia 1%, Variolink는 1%의 활성만이 남아 시험 군 모두 99%정도의 세포활성감소를 보였다(Fig. 9).

즉, IGF세포에서 시멘트 종류에 따른 세포활성변화는 시멘트의 농도 및 배양시간에 의존하였으며 각 시멘트의 0.1%에서 1%까지의 농도에서는 세포활성에 큰 변화가 없다가 10%농도에서는 배양기간 및 시멘트의 종류에 관계없이 95%이상의 세포활성감소가 나타났고 전반적으로 Bistite의 세포독성이 가장 많았으며 Variolink가 가장 세포활성을 유지시켰다.

## 2. 시멘트 종류에 따른 IC<sub>50</sub> 비교

시멘트종류에 따른 배양세포의 증식에 미치는 영향을 관찰하기 위하여 배양중인 정상 구강각화세포, 치은섬유모세포, 불멸화된 치은섬유모세포에 0.1%, 0.5%, 1%, 5%, 10% 희석 농도의 시멘트를 첨가하고 배양된 세포 수를 측정하여 IC<sub>50</sub>을 구한 결과, 세포독성에 가장 민감한 세포는 정상 구강각화상피세포였고 이중 Bistite가 1일은 1.84%, 3일은 1.10%로 가장 독성이 심했으며 Bistite, Panavia, Variolink의 순으로 세포독성이 있었다. 불멸화된 치은섬유모세포에서는 시멘트의 종류와 배양일에 따른 차이가 가장 적었으나 Bistite가 가장 독성이 심했으며

**Table I.** IC<sub>50</sub> of cements according to cell type after 1 day cultivation(%)

cement cell	Bistite II	Panavia F	Variolink II
NHOK	1.84	3.44	4.70
GF	6.66	5.53	6.50
IGF	3.98	4.07	4.40

**Table III.** IC<sub>50</sub> of cements according to cell type after 5 days cultivation(%)

cement cell	Bistite II	Panavia F	Variolink II
NHOK	1.10	1.40	6.40
GF	3.77	2.57	4.13
IGF	3.70	3.71	3.69

Variolink가 가장 독성이 낮았다. 치은섬유모세포에서는 불멸화된 치은섬유모세포의 독성반응과 유사하였는데 3일 배양 군에서는 시멘트종류에 따른 차이가 적었고 5일군에서는 Panavia가 가장 독성이 많아 배양세포종류에 따른 독성차이가 관찰되었다 (Table I, II, III).

### 3. 조직학적 관찰에 따른 치수반응

2일간 치아 기관배양 후 전부도재관 시멘트종류에 따른 치조골 및 치근막 세포에서의 변화는 없었고, 치수반응차이는 미약하였다. 이에 반해 10일간 치아 기관배양에 따른 전부도재관 시멘트 중 Bistite가 치수세포에 대한 독성이 가장 많았고 Variolink와 Panavia는 유사한 치수반응을 보였다(사진부도).

## IV. 고 찰

치과재료의 여러 가지 특성중 생체적합성은 매우 중요한 성질 중 하나이다. 또한 생체적합성 검사는 검사 과정을 표준화하기 쉽고 실험에 소요되는 기간이 적으며 결과를 정량적으로 분석하기 쉬운 장점을 지닌다. 이러한 세포독성 검사방법으로는 세포수를 산정하여 세포의 성장을 측정하는 방법, DNA 합성능

**Table II.** IC<sub>50</sub> of cements according to cell type after 3 days cultivation(%)

cement cell	Bistite II	Panavia F	Variolink II
NHOK	1.50	1.10	3.10
GF	3.70	3.80	3.96
IGF	3.87	3.56	4.18

을 측정하는 방법, 육안과 현미경으로 관찰하는 방법, 발색 반응을 이용하여 흡광도를 측정하여 생존능을 평가하는 방법 및 51Cr방출과 같은 세포막의 투과도 변화를 관찰하는 방법과 세포 외로 유리된 효소의 수치를 측정하는 방법 등이 사용되어왔다.

세포에 독성 변화가 일어났을 때 가장 초기에 나타나는 반응 중의 하나는 라이조솜과 미토콘드리아와 같은 세포 소기관의 투과도 변화이다.<sup>18-20)</sup> 제어된 실험조건 하에서 투과도의 변화는 가역적이며 세포의 형태학적 변화보다 먼저 나타나기 때문에 재료의 독성을 평가할 때 예민한 방법으로 사용될 수 있다.<sup>21)</sup> 수복치료 및 근관 치료에서 생체적합 물질의 요구는 임상적으로 사용 전에 구강조직에 대해 재료의 잠재적 위해효과를 검증하고 화합물을 검사하기 위한 세포독성검사가 요구되고 있다. 세포독성 스크린 검사는 재료 및 그 추출물에 의해 생기는 죽은 세포의 수를 측정함으로써 가능한데 세포독성이란 용어는 거대분자합성을 방해하거나 세포성 기능 및 구조적 손상을 일으키는 일련의 분자적 사건을 말한다.<sup>22)</sup>

Leirskar<sup>23,24)</sup>에 의하면 여러 치과용 시멘트의 세포독성은 불소, 아연과 pH의 변화때문인 것으로 알려져 있다. 완전히 경화된 ZOE시멘트는 산화아연입자가 아연-유지놀레이트(zinc eugenolate)기질에 묻혀있는 상태로 존재하고 유지놀레이트의 결합은 약하여 즉시 가수분해되어 유지놀과 수산화아연이 방출되며 이 때 방출된 유지놀의 농도에 의하여 ZOE가 생체 내에서 나타내는 효과가 결정되며 Tritium으로 표지된 유지놀을 이용하여 유지놀의 방출에 관하여 연구된 바 있다.

세포독성 검사를 이용한 생체 적합성의 검사는 약제를 검사하는 방법으로 주로 개발되어 왔다. 치과재료는 대부분 불용성이며 두 가지 성분으로 공급되어 이 재료들을 혼합하여 사용하거나 적절한 광원을



사용하여 경화시켜서 사용한다. 따라서 이러한 재료에서 독성 성분으로 가능한 물질은 이들의 경화반응에 의하여 영향을 받을 뿐 아니라 혼합된 상태의 어떤 단계에서 검사했는지에 의해서도 결정된다.<sup>25)</sup> 경화반응은 반응물질에서 새로운 조합을 형성할 수도 있으므로 재료의 독성이 어떻게 변하는가를 평가하는 것이 중요하다.<sup>26)</sup> 실험실에서 세포독성을 검사 시에는 고형재나 재료의 추출액을 사용하게 되는데 검사하고자 하는 재료를 어떤 상태로 하여 검사해야 하는지에 관해서는 일치된 견해가 없다. 따라서 이들 재료에 대한 독성을 평가할 때에는 실제 임상에서 구강내에 사용되는 재료의 상태를 기준으로 하는 것이 타당할 것으로 사료된다. 본 연구에서는 전부 도재관용 시멘트의 세포독성검사를 위해 시멘트를 갈아 희석용액으로 만든 후 이를 세포에 투여하였기에 간접적인 방법이라고 여겨지며, 직접적인 치수독성반응을 보기 위해 백서 절치박편을 기관배양 하여 조직학적 관찰을 하였다.

세포독성의 결과에는 여러 인자가 영향을 미치며 재료를 추출하여 사용하는 경우 추출하는 시간, 온도, 방법, 시편의 표면적에 대한 추출용매의 부피 및 세포와 재료가 접촉하는 방법에 따라서도 다르게 나타나므로 개개 연구자들의 결과를 비교하기 어렵다.<sup>27)</sup> 두 가지 이상의 세포주에 대하여 치과재료가 나타내는 세포독성에 관한 실험에서는 사용한 세포에 따라 예민도가 다양하게 나타난다.<sup>28-31)</sup> 일반적으로 이러한 예민도의 차이는 적지만 사용한 세포주에 따라서는 검사한 재료의 세포독성의 순위가 다르게 나타나게 된다. 그러나 독성이 현저히 강한 재료는 모든 세포에 대하여 강한 독성을 보이는 것으로 알려져 있다. 본 실험에서도 시멘트의 농도가 높아져 감에 따라 세포활성도가 현저히 감소하는 양상을 보였으며 Bistite, Panavia, Variolink가 배양세포의 증식에 미치는 영향을 관찰하기 위해 배양중인 정상 구강각화세포, 치은섬유모세포, 불멸화된 치은섬유모세포에 0.1%, 0.5%, 1%, 5%, 10% 희석 농도의 시멘트를 첨가하고 배양된 세포 수를 측정하여 50%의 세포성장을 억제하는데 요구되는 시멘트의 농도인 IC<sub>50</sub>을 구한 결과 세포독성에 가장 민감한 세포는 정상 구강각화상피세포였고 Bistite가 가장 독성이 심했으며 Bistite, Panavia, Variolink의 순으로 세포독성이 있었다. 불멸화된 치은섬유모세포에서는 시

멘트의 종류와 배양일에 따른 차이가 상대적으로 가장 적었으나 Bistite가 가장 독성이 많았으며 Variolink가 가장 독성이 적었다. 시멘트 종류에 따른 치은섬유모세포의 세포활성은 불멸화된 치은섬유모세포의 독성반응과 유사하였는데 3일 배양군에서는 시멘트종류에 따른 차이가 적었고 5일군에서는 Panavia가 가장 독성이 높았고 배양세포종류에 따른 독성차이가 관찰되었다.

생체 외 세포독성 스크린 검사에 사용되는 세포주의 선택은 아직도 논란의 대상이 되고 있는데 재료의 세포독성은 검사에 사용된 세포주에 의해 영향을 받을 수 있다 하였다.<sup>32)</sup> 형질 전환된 생쥐의 섬유모세포(L-929)같은 영구 세포주는 생체 외 세포독성 검색에 높은 재현성이 있지만<sup>33-35)</sup>, 구강조직에서 기원한 일차배양세포도 실제 임상적 상황과 이론적으로 더욱 유사할 수 있다. 조상아 세포의 배양이 치과 수복재료의 생체 외 세포독성검사에 이상적이지만 이런 세포는 상아기질과 관련되어 분리할 때 쉽게 성장이 되지 않아 일차 배양한 구강추출세포를 형질 전환시켜 영구 세포주로 변형해서 사용하는 시도가 그동안 이루어져왔으나<sup>14,15)</sup>, 원래 기원의 일차 배양 세포와 표현형의 유사성은 의문시되고 있다. 형질전환세포의 재료에 대한 민감성이 원래 기원한 일차세포와는 다를 수 있기 때문이다. Sloan등<sup>36)</sup>은 설치류 치아조각 기관배양 기술을 보고하였는데 조직 및 세포의 형태를 유지한 채로 조상아 세포의 표현형이 2주 이상 유지된다고 하였고, Murray 등<sup>37)</sup>도 백서의 치아조각 기관 배양법으로 치과재료의 세포독성 검사법이 세포배양 검사법 보다 치과임상에 더욱 생리적으로 유사한 검사법 이라고 하였다. 본 실험에서는 가능한 한 성장 특성을 명확히 비교하기 위하여 동일 환자, 동일 세대의 세포를 이용하였으며 7세대 이상의 세포는 사용하지 않았다.

신속하고 경제적으로 세포의 생존도를 측정할 수 있는 발색법(colorimetric assay)은 대조군 및 실험군의 세포가 모두 exponential growth curve에 있어야 하고 검사방법의 예민도가 적절해야 하며 사용한 세포와 독성물질의 적용시간과 검사방법의 조건 등을 고려해야 한다.<sup>38,39)</sup> 발색법에는 AP-NaOH, Neutral red (3-amino-7dimethyl-2-methylphenazine hydrochloride, N-R), SRB, CVDE, MTT를 이용한 방법등이 있다. 예민도의 면에서는 MTT를 이용한

방법보다 NR방법이 좀더 예민한 것으로 알려져 있으나<sup>40)</sup> MTT를 이용한 검사방법은 세포의 생존능, 증식 및 활성을 정량적으로 측정하는 예민하고 신뢰성 있는 방법이다.<sup>41)</sup> 이 검사방법은 생존세포의 미토콘드리아의 dehydrogenase가 노란색의 formazan결정으로 전환시키는 능력으로 측정하며 이 때 생성된 formazan의 양은 세포의 수에 비례하며 이런 결과는 세포의 DNA합성능을 측정하는 [<sup>3</sup>H]-thymidine uptake의 결과와 일치하는 것으로 알려져 있다.<sup>42,43)</sup>

생물학적인 측면에서 이상적인 시술을 한 경우라 하더라도 치과 보철물은 구강환경의 일부를 변화시키기 때문에 이에 따른 조직반응이 나타나게 된다. Berman<sup>44)</sup>은 불완전하게 치관을 접착시킨 경우 치관변연에 남아있는 시멘트 입자가 치수에 염증을 유발시킨다고 보고하여 합착의 중요성과 잔존시멘트의 완전한 제거를 강조했다. 보존적 치료 시 임시충전 이장재로 사용되며 임시접착재료로 사용되는 ZOE 시멘트의 치수에 대한 자극은 Mitchell<sup>45)</sup>, Dubner<sup>46)</sup>, Myers<sup>47)</sup>, Stanley<sup>48,49)</sup>, Swerdlow<sup>50)</sup> 등에 의해 매우 미약하다고 보고된바 있다. 그러나 Brannstrom<sup>51)</sup>은 ZOE 시멘트가 심한 치수반응을 야기한다는 과거의 연구와는 상반된 결과를 보고하였으며, 수산화칼슘 시멘트가 치수에 거의 무 자극성이며 치수반응이 야기된다 하여도 매우 미약하기에 치질삭제가 심한 경우에 치수를 보호하기 위해 필요하다고 보고하였다. 또한 인산아연 시멘트는 심한 치수반응을 야기 시키므로<sup>47-59)</sup> 이러한 화학적 자극으로부터 치수를 보호하기 위해서는 삭제된 지대치 표면에 바니쉬나 라이너의 사용을 필요로 하는데 이와 같은 경우 Myers<sup>47)</sup>, Horn<sup>52)</sup>, Gurley<sup>53)</sup>, Stanley<sup>48,49)</sup>, Swerdlow<sup>50)</sup>, Van Huysen<sup>54)</sup>, James<sup>55)</sup>, Berman<sup>56)</sup> 등은 치수에 대한 자극을 이유로 하여 ZOE 시멘트의 사용을 역설하였고, Brannstrom<sup>51)</sup>, Zander<sup>57)</sup>, Seltzer<sup>58)</sup>, Kornfeld<sup>59)</sup>는 수산화칼슘 시멘트의 사용을 권장하였다. 배양치아절편의 삭제된 와동에 검사물의 세포독성을 검사하게되면 치아수복인자의 치수효과를 볼 수 있고 이런 결과에 영향을 주는 인자로는 와동삭제, 상아질 와동벽의 조건, 세균의 존재, 치수와 와동벽간의 거리, 재료적용방법에 달려있다. 치아박편배양에서 와동형성의 유용성은 치수 세포수에 대한 잠재적 세포 독성효과를 검사하기보다는 특히 이런 인자들에 대한 치수세포 반응을 추정하는데 적절하다. 본 실험

에서는 도재전장관의 접착에 자주 사용되는 Panavia F, Dual cure type인 Variolink II 와 조작성이 간편한 Bistite II 레진 시멘트를 사용하여 독성검사를 한 결과 2일간 치아 기관배양 후 시멘트종류에 따른 치수골 및 치근막 세포에서의 변화는 없었고 치수반응차이는 미약하였으나, 10일간 치아기관배양 후 결과는 Bistite가 치수세포 독성이 가장 많았고 Variolink와 Panavia는 유사한 치수반응을 보였다.

도재수복물에 사용되는 접착성 레진 시멘트에는 일반적으로 Bis-GMA 시멘트, 인산 에스테르계 Bis-GMA 시멘트, 4-META 함유 시멘트의 3종류가 있다. 본 실험에 사용된 Variolink II 시멘트는 Bis-GMA계 이중중합형 레진 시멘트로 점조도가 다른 3종류와 반투명성을 지닌 5종류의 shade로 구성되어 있으며, 얇은 피막두께로 수복물의 심미성을 유지하면서도 강력한 접착을 지니며 Empress2의 접착 시멘트로 제조회사에서 추천하고있는 시멘트이다. 지속적인 불소방출로 수복물 변연 부위의 이차 우식을 방지하고, 방사선 불 투과성이므로 시술 후 접착상태의 확인이 용이하며 필요에 따라 shade 수정작업이 용이하고 투명성이 뛰어나 주변의 자연치아와 최적의 조화를 이룰 수 있다. 그러나 접착 과정이 복잡하여 시술 오차가 생길 가능성이 있다. Panavia F는 인산 에스테르계 이중중합형 레진 시멘트로 Panavia 21과 도재에 대한 결합강도는 비슷하나 광활성 촉매제를 함유하고 있어 광 중합이 가능하다는 것과 표면 처리된 불화나트륨을 함유하고있어 불소가 유리된다는 차이점이 있다. 78wt%의 충전재를 함유하고 있어 압축 강도가 높고 수분 흡수성이 낮으며 온도 변화에 민감하지 않아 중합수축이 적으며 낮은 점도를 가지고 있어 표면의 미세 구조내로 깊이 침투해 높은 접착강도를 나타내는 장점이 있다. Bistite II 시멘트는 높은 접착력과 용이한 조작성을 갖춘 접착성 레진 시멘트로서 접착성 모노머 MAC-10의 배합과 새로운 조성에 의해 치질, 금속, 복합레진, 도재와 견고하게 접착하며 2 paste dual cure type으로 super syringe를 사용하여 조작성도 뛰어나다. 심미적 요구로 자주 시술하게되는 도재 라미네이트 비니어나 전부도재관의 접착에는 일반적으로 기계적 화학적으로 접착력이 우수한 복합레진 시멘트를 주로 이용하는데 도재수복물에 이용되는 레진 시멘트의 물리적 성상은 구강이라는 특수한 환경 여건에 따라

여러 가지 변화를 일으키게 된다. 즉, 치질, 레진 시멘트, 도재등의 열팽창계수의 차이, 레진 시멘트의 중합 수축, 시멘트내의 응력 분포, 용해성, 흡습성 등으로 인해 변연 누출이 일어나게 되며 결국 수복물의 변연 누출은 치은염, 치아우식증, 치주질환의 원인이 되며 유지력과 심미성에 영향을 주게 된다.<sup>60)</sup>

Malamant<sup>61,62)</sup>과 Ellison등<sup>63)</sup>은 전부도재관을 복합 레진 시멘트로 접착하면 인산아연시멘트나 글래스 아이오노머 시멘트로 접착한 것에 비해 그 실패율이 현저히 감소한다고 보고하였다. 레진 시멘트는 다른 시멘트보다 압축강도, 인장강도, 탄성율이 크며, 불산 부식과 silane처리로 인해 전부도재관 내면의 미세 결합부를 채울 수 있는 능력이 뛰어나서 균열전파를 방지한다고 여겨져 왔다. 상아질이 노출된 부위의 수복에 사용되는 상아질 표면 처리제를 사용한 수복물과 치질의 결합력 및 변연 누출 개선 여부에 대한 연구에서 Doering<sup>64)</sup>은 이러한 현상이 강력한 상아질 결합제와 복합레진 시멘트가 교합하중으로 인한 응력을 전부도재관내에 축적되게 하지 않는 대신 전부도재관과 접촉하는 치아면으로 잘 분산시키기 때문이라고 하였다. 상아질 표면에 대한 결합강도를 증진시키기 위해 여러 종류의 복합 레진에서 각기 다른 상아질 표면 처리제를 사용하고 있으나 동일 조건에서 상아질 결합제의 효과에 대한 보고는 미약하다.

보철학 영역에서 수복물의 변연 누출은 구강 내 타액이나 미생물의 침투로 인해 여러 가지 문제점을 야기하게 되는데 수복물의 변연 누출에 관한 실험 방법에는 여러 학자들에 의해 연구되었으며 염색법, 박테리아법, 광학 현미경법, 동위원소 추적자법, Air pressure법, 전자 현미경법, Neutron activation analysis, Replica technique, Ion etching 등의 방법이 있으며 이중 유기색소를 이용한 염색법이 수복물 주위의 변연 누출을 검사하는 간단한 방법으로 널리 사용되고 있다. Zaimoglu등<sup>65)</sup>은 도재 라미네이트 비니어의 변연 누출에 관한 연구에서 상아범람질 결합제가 변연 누출을 감소시킨다고 보고하였으며, 레진 시멘트의 중합수축, 용해성, 응력 분포, 흡습성 등은 변연 누출을 일으키며 레진 시멘트의 폴리머는 수분의 가소성 효과로 인하여 연화되기 쉬워 열, 기계적 응력등에 의하여 변하게 된다. 이상의 원인으로 인한 변연 누출이 도재-시멘트 경계면에서 유발

되며, 시멘트 층의 interlocking tag가 용해액에 직접 노출되어 누출 부위는 더욱 커지게 되어 수복물의 유지력에 영향을 주게 된다.<sup>66)</sup>

생체적합성 평가의 가장 이상적인 것은 인간의 생체 내 시험이지만 법률적 및 윤리적 고려사항 때문에 문제가 되고 치아절편의 깊은 상아질 와동의 삭제 및 수복은 실제 임상적 상황과 거의 유사하기 때문에 배양된 인간 치아 박편을 치과재료의 세포독성 검사에 사용하는 것은<sup>67)</sup> 도움이 되지만 질병이 없는 발치치아를 얻는 것이 어렵기 때문에 문제가 될 수 있다. 또한 인간 치아 병리에서 변이와 개체간의 기왕력의 차이가 검사물의 세포반응에 영향을 줄 수 있어 재현하기가 어려운 검사조건을 갖고 있기 때문에 이러한 인간치아를 이용하는 기관배양 검사법은 예측 및 신뢰할 수가 없다고 하였다.<sup>68)</sup> 본 연구에서도 사람의 치아를 이용하여 치아박편의 기관배양을 하려했으나 동일치아에서 2mm두께의 치수가 포함된 횡단 절편을 4개 이상 얻는 것이 불가능하여 대체 방법으로 설치류 치아를 이용하였다.

본 연구결과 세포독성의 차이는 세포의 성장방식이 정상 구강각화상피세포에서 치은섬유모세포 또는 불멸화한 치은섬유모세포에서와는 상이한 결과를 보였다. 그러나 이러한 차이가 MTT방법이 아닌 다른 검사방법에서도 나타나는데에 관한 계속적인 연구가 필요하리라 사료된다. MTT방법은 세포의 독성 측정방법 중 생존능을 관찰하는 방법으로 세포가 상당히 손상을 받은 이후에 나타나는 반응을 측정하므로 각 세포에 따른 예민도의 차이를 정확히 반영하는 방법으로 적절하지 않을 수도 있다. 또한 본 실험에서는 시멘트를 세포배양액에 투여한 것이므로 투여한 용액 속의 성분이 독성을 지닌 성분이 추출되었는지에 의해서도 상대 흡광도의 수치가 영향을 받을 수 있음을 고려해야 할 것이다. 추후 이들 추출용액의 pH측정이나 추출용액중의 산물 분석을 부가적으로 시행할 필요가 있다고 사료된다.

## V. 결 론

전부도재관용 레진시멘트의 생체적합성을 평가하기 위하여 Panavia F(Kuraray Co., Ltd. Japan), Variolink II (Vivadent, Liechtenstein), Bistite II (Bistite dual cure resin cement-clear, Tokuyama

Soda Co., Japan)의 세포독성을 비교 연구하였다. 정상 구강각화상피세포, 치은섬유모세포 및 Human Papilloma virus 16으로 불멸화한 치은섬유모세포에서 세포활성을 비교 분석하였고, 백서 절치 박편을 기관 배양한 후 광학 현미경을 통한 치수반응을 비교 분석하여 연구한 결과 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 정상 구강각화상피세포가 시멘트의 독성에 가장 민감하였으며, BistiteII에서 가장 높은 독성을 보였으며 Panavia F, Variolink II의 순이었다.
2. 불멸화된 치은섬유모세포에서 각 시멘트의 종류와 배양일에 따른 차이는 상대적으로 가장 적었으나 Bistite II에서 독성이 크고 Variolink II에서 독성이 적은 경향을 보였다.
3. 시멘트의 종류와 관계없이 치은섬유모세포의 세포활성도는 불멸화된 치은섬유모세포와 유사하였는데 3일 배양군에서는 시멘트종류에 따른 차이가 적었고 5일군의 경우 Bistite II가 독성이 많았으나 배양세포간의 차이는 적었다.
4. 시멘트의 종류에 따른 치수반응은 배양 2일 후의 경우는 차이가 미약하였으나 10일 후 BistiteII에서 Variolink II와 Panavia F에서보다 높은 독성을 보였다.

### 참고문헌

1. Southan DE, Jorgensen KD. An explanation for the occurrence of internal faults in porcelain jacket crowns. *Aust Dent J* 1973;18:152-156.
2. Southan DE, Jorgensen KD. Faulty porcelain Jacket crowns. *Aust Dent J* 1972;17:436-440.
3. Waerhaug J. Presence or absence of plaque on subgingival restorations. *Scand J Dent Res* 1975;83:193-201.
4. Yoon DJ. Pulp reactions to tempoary cements. *J Korean Acad prosthodont* 1977;15.
5. Lee DA. An experimental study on the effects of retained cements in the gingival sulcus around artificial crowns. *J Korean Acad prosthodont* 1976;14.
6. Lee HY, Choi DG, Choi BB, Park NS. An experimental study on pulpal response to the phosphoric ester cement in dogs. *J Korean Acad prosthodont* 1986;24.
7. Walton JN, Gardiner FM, Agar JR. A survey of crown and fixed partial denture failures : Length of service and reasons for replacement. *J Prosthet Dent* 1986;56:416-421.
8. Gardner FM. Margins of complete crowns - Literature review. *J Prosthet Dent* 1982;48:396-400.
9. Hunter AJ, Hunter AR. Gingival margins for crowns : A review and discussion. Part II : Discrepanices and configurations. *J Prosthet Dent* 1990;64:636-642.
10. Morris HF. Veterans Administration Cooperative Studies Project No. 147. Part II : A new assessment system for rating metal-ceramic crowns. *J Prosthet Dent* 1986;56:546-551.
11. Hamaguchi H, Cacciato A, Tueller VM. Marginal distortion of the porcelain-bonded-to-metal distortion of the porcelain-bonded-to-metal complete crown : A SEM study. *J Prosthet Dent* 1982;47:146-153.
12. Donovan T, Prince J. An analysis of margin configurations for metal-ceramic crown. *J Prosthet Dent* 1985;53:153-157.
13. Schmalz G. Agar overlay method. *Int Endod J* 1988;21:59-66.
14. Hanks CT, Fang D, Sun Z, Edwards CA, Bulter WT. Dentine-specific proteins in the MDPC-23 cell line. *Eur J Oral Sci* 1998;106(suppl 1):S260-6.
15. MacDougall M, Selden JK, Hydegger JR, Carnes DL. Immortalized mouse odontoblast cell line M06-G3 application for in vitro biocompatibility testing. *Am J Dent* 1998;11(suppl):S11-6.
16. Arenholt-Bindslev D, Horsted-Bindslev P. A simple model for evaluating relative

- toxicity of root filling materials in cultures of human oral fibroblasts. *Endod Dent Traumatol* 1989;5:219-226.
17. Kaga M, Noda M, Ferracane JL, Nakamura W, Oguchi h, Sano H. The in vitro cytotoxicity of eluates from dentin bonding resins and their effect on tyrosine phosphorylation of L929 cells. *Dental Materials* 2001;17:333-339.
  18. Tyas MJ. The effect of silicate cement on the mitochondria and lysosomes of culture cells assessed by quantitative enzyme histochemistry. *J Oral Rehab* 1979; 6:55-60.
  19. Acosta D, Wenzel DG. A permeability test for the study of mitochondrial injury in vitro cultured heart muscle and endothelioid cells. *Histochem J* 1975;7:45-48.
  20. Reed B, Wenzel DG. The lysosomal permeability test modified for toxicity testing with cultured heart endothelioid cells. *Histochem J* 1975;7:115-118.
  21. Carbini RL, Fasch ACC, Itoliz ME. A quantitative microscopic study of the lead precipitation reaction for the histochemical demonstration of acid phosphatase. *Histochem J* 1975;7:419-451.
  22. Aldridge WN. The biochemical principles of toxicology. *Exp Toxicol* 1993;5:56-78.
  23. Leirskar J, Helgeland K. Cytotoxic effects of pH, fluoride and zinc. *Int Endod J* 1988;21:120-129.
  24. Leirskar J, Helgeland K. Toxicity of some dental cements in a cell culture system. *Scand J Dent Res* 1977;85:471-479.
  25. Hensten-Petersen A. Comparison of the methods of available for assessing cytotoxicity. *Int Endod J* 1988;21:89-99.
  26. Ruyter IE. Release of formaldehyde from denture base polymers. *Acta Odontol Scand* 1980;38:17-27.
  27. Wennber A. Cell culture in the biological evaluation of dental materials: a review. *ATLA* 1986;13:194-202.
  28. Hensten-Pettersen A, Hegeland K. Sensitivity of different human cell lines in the biologic evaluation of dental resin based restorative materials. *Scan J Dent Res* 1981;89:102-107.
  29. Meryon SD. The importance of surface area in the cytotoxicity of zinc phosphate and silicate cements in vitro. *J Biomat* 1983; 4:39-43.
  30. Wennberg A, Major A, Hensten-Pettersen A. Biological evaluation of dental restorative materials a comparison of different test methods. *J Biomed Mat Res* 1977;17:23-36.
  31. Johnson HJ, Northup SJ, Seagraves PA, Gravin PJ, Wallin RF. Biocompatibility test procedures for materials evaluation in vitro I. Comparative test system sensitivity. *J Biomed Mat Res* 1983;17:571-586.
  32. Wataha JC, Hanks CT, Sun Z. Effect of cell line on in vitro metal ion cytotoxicity. *Dent Mater* 1994;10:156-161.
  33. Dentistry-preclinical evaluation of biocompatibility of medical devices used in dentistry-test methods for dental materials. International Standards Organisation 1996:ISO 7405.
  34. Biological evaluation of dental devices. International Standards Organisation 1992:ISO 1993.
  35. Schmalz G. The in vitro toxicity of silicone impression materials (Abs49). *J Dent Res* 1981;60:1210.
  36. Sloan AJ, Shelton RM, Hann AC, Moxham BJ, Smith AJ. An in vitro approach for the study of dentinogenesis by organ culture of the dentine-pulp complex from rat incisor teeth. *Arch Oral Biol* 1998; 43:421-430.

37. Murray PE, Lumley PJ, Hamish F, Ross HF, Smith AJ. Tooth slice organ culture for cytotoxicity assessment of dental materials. *Biomaterials* 2000;21:1711-1721.
38. Borenfreund E, Puerner JA. A simple quantitative procedure using monolayer cultures for cytotoxicity assays. *J Tissue Culture Method* 1983;9:7-9.
39. Cook JA, Mitchell JB. Viability measurements in mammalian cell systems. *Anal Biochem* 1989;179:1-7.
40. Kueng W, Silber E, Eppenberger U. Quantification of cells cultured on 96-well plates. *Anal Biochem* 1989;182:16-9.
41. Monsman T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *J Immunol Methods* 1983;65:55-63.
42. Gerlier D, Thomasset N. Use of MTT colorimetric assay to measure cell activation. *J Immunol Methods* 1986;94:57-63.
43. Gerlier A, Sollinger HW, Burlingham WJ. A rapid assay for measuring both colony size and cytolytic activity of limiting dilution microcultures. *J Immunol Methods* 1988;107:111-7.
44. Berman MH. The complete-coverage restoration and the gingival sulcus. *J Prosthet Dent* 1973;29:301-309.
45. Mitchell DF. The irritational qualities of dental materials. *J AM Dent Assoc* 1959;59:954-966.
46. Dubner R, Stanley H. Reaction of the human dental pulp to temporary filling materials. *Oral Surg Oral Med & Oral Path* 1962;15:1009-1016.
47. Myers GE. Status report on zinc oxide-eugenol and modified cement. *J AM Dent Assoc* 1968;76:1053-1055.
48. Stanley HR, Swerdlow H. An approach to biologic variation in human pulpal studies. *J Prosthet Dent* 1964;14:365-371.
49. Stanley HR. Traumatic capacity of high speed and ultrasonic dental instrumentation. *J AM Dent Assoc* 1961;63:750-766.
50. Swerdlow H, Stanley HR. Reaction of the human dental pulp to capacity preparation: Results produced by eight different operative techniques. *J AM Dent Assoc* 1959;58:49-59.
51. Brannstrom M, Nyborg H. Pulp reaction to a temporary zinc oxide-eugenol cement. *J Prosthet Dent* 1976;35:185-191.
52. Horn HR. Histologic changes in teeth due to plastic filling materials. *J AM Dent Assoc* 1961;63:813-820.
53. Gurley WB, Van Huysen G. Histologic changes in teeth due to plastic filling materials. *J AM Dent Assoc & D Cos* 1973;24:1806-1816.
54. Van Huysen G, Gurley WB. Histologic changes in the teeth of dogs following preparation of cavities of various depths and their exposure to oral fluids. *J AM Dent Assoc* 1939;26:87-100.
55. James V, Diefenbach G. Prevention of histopathologic changes in young dogs teeth by use of zinc oxide and eugenol. *J AM Dent Assoc* 1942;29:583-592.
56. Berman MH. Preservation of pulp health during complete coverage procedures. *J AM Dent Assoc* 1965;70:83-89.
57. Zander HA. Pulp response to restorative material. *J AM Dent Assoc* 1959;59:911-915.
58. Seltzer S, Bender IB. Modification of operative procedures to avoid postoperative pulp inflammation. *J AM Dent Assoc* 1963;66:503-512.
59. Max Kornfeld. *Mouth rehabilitation* 6th Ed. 1974 The C. V. Mosby Co.60. Bello JA. Bond strength and microleakage of porcelain repair materials. *J Prosthet Dent*

- 1985;54:788-91.
61. Malament KA. Considerations in posterior glass-ceramic restoration. *Int J Perio Dent* 1988;4:33-49.
62. Malament KA, Grossman DG. The cast glass-ceramic restoration. *J Prosthet Dent* 1987;57:674-683.
63. Ellison JA, Lugassy AA, Setcos JC, Moffa JP. Clinical trial of cast glass-ceramic crowns: Seven year findings(abstract). *J Dent Res* 1992;71:207.
64. Doering J, Jensen ME, Sheth J, Tolliver D, Chan D. Etched porcelain resin bonded full veneer crowns, In vitro fracture resistance. *Compend Cont Educ Dent* 1989;10:336-446.
65. Zaimoglu A, Karaagaciloglu L. Microleakage in porcelain laminate veneers. *J Dent* 1991;19:369-372.
66. Rothermal RA, Kelly JR. Resin bonded prosthesis, Microleakage and luting agent thickness of etched and cast mesh work retainers. *J Prosthet Dent* 1986;56:47-50.
67. Megloire H, Joffre A, Bleicher F. An in vitro model of human dental repair. *J Dent Res* 1996;75:1971-1978.
68. Begue-Kirn C, Smith AJ, Ruch JV, Wonzney JM, Purchio A, Hartmann D, Lesot H. Effect of dentine proteins, transforming growth factor b1(TGF-b1) and bone morphogenic protein2(BMP2) on the differentiation of odontoblasts in vitro. *Int J Dev Biol* 1992;36:491-503.

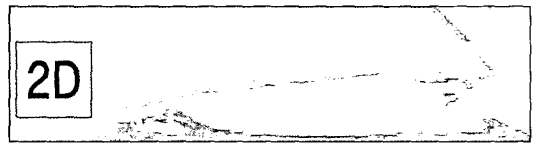
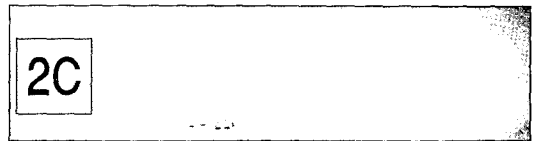
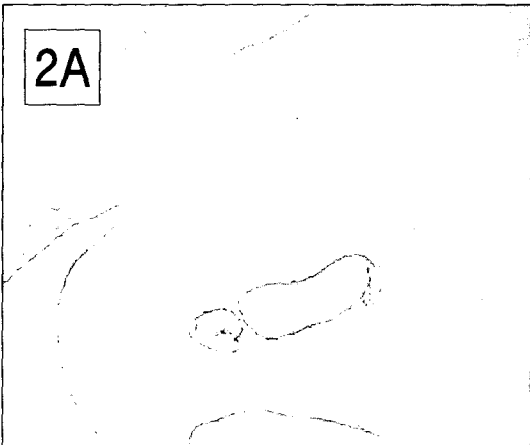
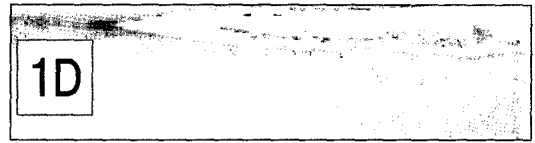
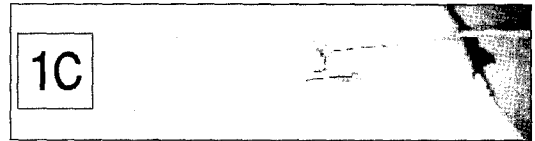
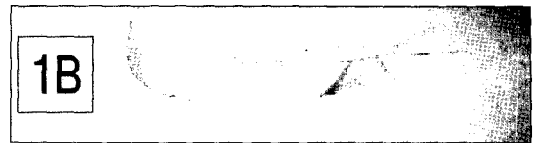
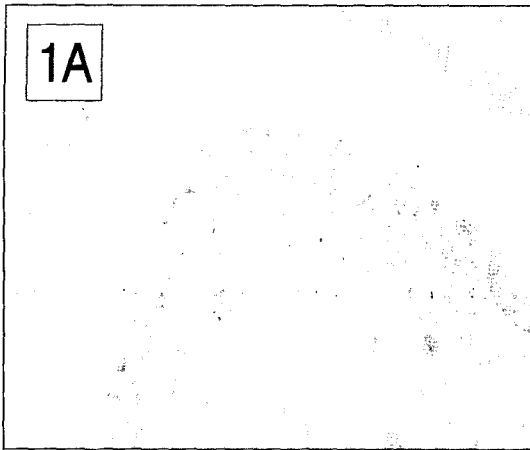
---

**Reprint request to:**

Tai-Ho Jin, D.D.S., Ph.D.

Department of Prosthodontics, School of Dentistry, Wonkwang University  
344-2, Shinyong-Dong, Iksan 570-749, Korea  
jin@wonkwang.ac.kr

사진부도



Histologic features of 2 days(1A,1B,1C,1D), 10 days(2A,2B,2C,2D) cultured tooth slice with cavity( H - E stain). 1A(x200) & 2A(x200) : untreated control, 1B(x40) & 2B(x40) : Variolink Tx, 1C(x40) & 2C(x40) : Panavia Tx, 1D(x40) & 2D(x40) : Bistite treated.

In 2 days culture(1A,1B,1C,1D), there is no significant survival difference of dental pulp cell population within tooth slice among control & experimental group.

In 10 days culture(2A,2B,2C,2D), control slice result in decrease in number of morphologically intact pulp cells. Bistite treated tooth slice showed severe pulp cell destruction.



ABSTRACT

## A STUDY ON BIOCOMPATABILITY OF RESIN CEMENTS FOR ALL-CERAMIC CROWN

Kwang-Jun Kim, D.D.S., Sung-Hoon Kim, D.D.S., Tai-Ho Jin, D.D.S.

*Department of Prosthodontics, School of Dentistry, Wonkwang Dental Research Institute,  
Wonkwang University*

**Statement of problem** : Resin cements were used widely on all ceramic crowns, but the influence of resin cements on biocells was not understood clearly.

**Purpose** : This study was investigated to evaluate the biocompatibility of resin cements for all-ceramic crowns.

**Material and Method** : The resin cements used in this study were Panavia F (Kuraray Co., Ltd. Japan), Variolink II (Vivadent Ets., Schann / Liechtenstein), and Bistite II (Bistite dual cure resin cement-clear, Tokuyama Soda Co., Japan). The viability of normal human oral keratocytes, gingival fibroblast, and gingival fibroblast immortalized by Human Papilloma virus 16 was measured in vitro for evaluation of cytotoxicity on resin cements, and the response of pulp tissue was analyzed and evaluated with light microscope after application of cements at cutting edge of incisors.

**Results** : The normal human oral keratocytes was the most sensitive to toxicity of resin cement, and toxicity of cements was higher in Bistite II than in Variolink II. The cell viability of immortalized gingival fibroblast did not affected by type of cement and cultivation period, but there was a tendency that cytotoxicity in Bistite II was higher than in Variolink II. The cell viability of gingival fibroblast was similar to that of immortalized gingival fibroblast regardless of cement type, but Bistite II showed more toxic than others after 5 days cultivation. The responses of pulp tissue according to cement type were similar after 2 days cultivation, but revealed high toxicity in Bistite II after 10 days cultivation.

**Conclusion** : Variolink II was more biocompatible than any other resin cements used in this study.

---

**Key words** : Biocompatibility, Resin cement