

組織培養에 의한 複合레진의 毒性에 關한 實驗的研究*

서울大學校 齒科大學 保存學教室

教授 金 英 海

一 目 次

- 一. 緒 論
- 二. 實驗資料 및 方法
- 三. 實驗成績
- 四. 總括 및 考案
- 五. 結 論
- 參考文獻
- 英文抄錄
- 寫眞附圖

一. 緒 言

齒科齶蝕症治療에 利用되는 充填材料는 其物
理化學的特性에 따라 生體에 미치는 影響은 各
樣各色으로 나타난다. 흔히 金屬에서는 化學的
安定性은 높지만 熱傳導性이 높기 때문에 溫度
的刺戟이 齒髓에 미치기 쉽고 矽멘트類는 混合
後硬化過程에서 發生하는 硬化熱과 高酸性度가
齒髓에 刺戟을 주고 甚之於是 痛症이 惹起되
기도 한다. 近來 널리 使用되는 複合레진은 簡便
한 使用法과 審美性의 特性때문에 더욱 注目
을 받고 있다. 그러나 이러한 特性의 反面에 生體
에 對한 有害性의 檢討는 充填後의 齒髓反應을
檢討하는데 지나지 않고 또 材料의 評價도 主
로 口腔內에서의 色調變化와 邊緣漏出이나 二
次齶蝕發生與否에 重點을 두고 있다.

充填後 齒髓反應은 其材料의 生體에 對한 毒
性으로 惹起되기도 하겠지만 充填을 施行키 爲
한 窩洞形成時의 技術的差異, 操作이 多樣性
或은 患者의 相異한 體力 等으로 其反應度는
各各 다를것이다. 그러기 때문에 어떤 材料의
毒性을 生體에서 實驗하기 爲해서는 反應에 影
響을 줄 수 있는 要因을 減少하여야 할 것이
다. 따라서 充填材料에 對한 齒髓反應을 評價
하기 爲해서는 動物齒牙에서 主로 實驗을 하여
一定時間經過後 組織學的變化를 봄으로서 其毒
性を 推測하였다. 이 方法도 顯微鏡下에서의
組織像의 解釋이 滿足스러운 程度로 一致되지
않는 境遇도 종종 있게 마련이다. 動物實驗이
나 臨床實驗에 있어서는 窩洞形成時 刺戟이 齒
髓에 미치는 影響을 一定하게 調節할 수는 없
을 것이다. 또 充填材料和 齒髓 사이에 남아있
는 象牙質의 厚徑이 材料自體의 化學的毒性을
遮斷하는데 큰 役割을 하는 것이지만 實驗例다
다 一定한 厚徑을 維持하기도 不可能하다. 其
外에도 充填材料和 生體間의 相互作用으로 新
陳代謝, 炎症發生 및 免疫反應과 같은 廣範圍
한 生理에 邊調를 招來할 수 있다. 過去 約 30
年間 齒科材料의 細胞毒性評價를 爲하여 組織
培養法이 널리 利用되어왔다. 이 方法으로 組
織을 構成하는 主要細胞에 對한 毒性의 한 斷
面은 알 수 있지만 生體內에서의 其部位에 對
한 毒性發現과 恒常一致하는 것은 아니다. 換
言하면 生體어떤 部位에 對해서 毒性이 있다고

*本研究은 1988년도 서울대학교병원 임상연구비에 의하여 이루어진것임.

하여도 他部位모두에 같은 效果가 있다고는 할 수 없다. 齒科材料의 毒性은 組織培養法을 통하여 其細胞의 成長度, 細胞膜의 透過性 및 新陳代謝의 變化 等으로 評價할 수 있다. 이러한 方法으로 毒性이 決定되었다 하더라도 生體에서 똑같은 影響을 준다고는 할 수 없다. 왜냐하면 生體에서는 免疫學的인 問題가 關聯되기 때문에 毒性의 增減에 對해서는 究明키 어렵다고 본다.

著者는 複合레진의 毒性을 齒髓組織의 主要構成細胞인 纖維芽細胞를 利用하여 數種複合레진의 毒性을 光學顯微鏡下에서 細胞의 增殖狀을 通하여 檢討한 結果를 報告하는 바이다.

二. 實驗材料 및 方法

實驗材料：複合레진으로는 代學的으로 重合反應으로 硬化되는 Microrest(GC社, Batch No.090271), Compodent II (AN. Batch No.111786), Clearfil II (Lot No.00393) 및 Composite Shofu(Lot No.0776) 等 4種類를 選擇하고 實驗細胞로는 纖維芽細胞인 株細胞 L851代를 採用하였다.

實驗方法：75ml容량의 組織培養후라스크 (Bellco Biotechnology N.J.U.S.A.)에 α MEM 60ml를 分注하고 株細胞는 6×10^6 個 株細胞를 各후라스크에 注入하여 混合한 後 試片을 中央部에 올려놓았다. 各試驗材料는 製造會社의 指示書대로 鍊化하여 試料로 하였다. $0.22\mu\text{m}$ 細孔을 갖인 microfilter 上에 10mm 直徑 10mm 높이의 硝子製圓筒管의 一端을 固定한 容器속에 試料를 넣은 後 上記와 같이 후라스크中央部에 位置토록하고 培養管內에서 5日間 培養하였다. 培養器는 5%炭酸가스를 維持하고 管內溫度는 36.6°C 였다. 對照群으로서는 microfilter上에 硝子製容器를 密着시킨 것만 후라스크에 넣었다. 各試料마다 5個式을 實驗群으로 하였다.

三. 實驗成績

對照群：細胞는 크게 比較的密集된 狀態로

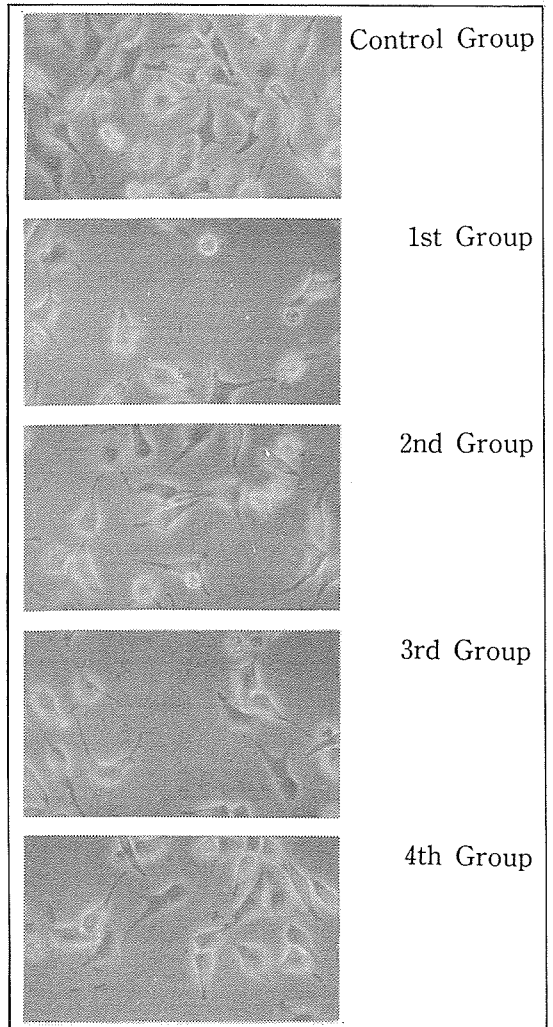
增殖成長하였고 細胞의 突起도 銳利한 角을 이루어 光瑞이 길게 뻗어나가고 있었다.

第一群：成長된 細胞의 크기나 性狀은 對照群과 비슷하나 密集度에 있어서는 極히 低調하며 顯微鏡視野에서 空間과 비슷한 面積을 占有하고 있을 뿐이었다.

第二部：成長된 星狀細胞의 모습은 對照群과 同一하나 密集度에 있어서는 第一群보다 훨씬 높은 中導度이었다.

第三群：第一群과 恰似한 意見이었다.

第四群：第二群見과 恰似하였다.



四. 總括 및 考按

人工合成物質이 大量日常生活用品에 利用되면서 齒科界에도 導入되어 器材로서 或은 治療에 應用되고 있다. 代表的材料로서는 acrylic resin이며 이것은 操作의 簡便성과 着色の 容易性 때문에 義齒床材料로서 널리 使用되었고 silicate cement의 代替材料로서 큰 興味が 있었으나 Monomer 1에 Polymer 3을 重合하였을 때 約 5%의 收縮을 일으켜 큰 短點을 나타내었다²⁾.

溫度變化에 따른 熱膨脹係數도 必要한 充填材料의 要件이 되며 珥瑯質에서는 11.4×10^{-6} 이고 resin에서는 81×10^{-6} 의 數值이라. 따라서 resin 充填時 窩洞壁과 充填物間에는 隙隙이 쉽게 생겨 充填效果가 減少하게 된다¹⁾. 이러한 短點을 改善하기 爲하여서 硝子纖維, 酸化알미늄, 陶材粉末 및 石英粉末 등의 不活性 添加物을 補強目的으로 混合하는 同時에 結合性的 增加를 爲해서 silan 加工으로 膨脹係數를 훨씬 減少할 수가 있었다⁴⁾.

接養着的 增加와 邊緣閉鎖目的으로 齒冠表面을 酸處理하는 方法이 開發^{3,5,6,7)}되어 resin 充填은 急激히 大量使用되기에 이르고 其審美性的 優秀한 點으로 더욱 크게 利用되고 있다. 그러나 이 材料 充填後 殘存齒髓의 反應은 比較的 큰 것^{8,9)}으로서 特히 窩洞底部의 象牙質이 幅이 적을수록 齒髓反應이 크기때문에 齒髓保護를 爲한 裹裝은 必順的이라 하겠다. 酸化亞鉛丁香油 製劑가 그 교합으로 널리 使用되어 왔으나 齒髓에 對한 刺戟性은 比較的 크고 때에 따라서는 慢性炎症을 惹起하고^{10,12)} 生體外組織培養에서도 細胞毒性이 確認되었다고 한다. 이는 zinc oxide eugenolate가 化學적으로 不安定하고 또 周圍의 水分과 反應하여 不溶性인 水酸化亞鉛을 形成하면서 eugenol을 放出하기 때문에 이로 因한 刺戟과 또 prostaglandin 形成에 影響을 미치기 爲하므로 思料된다. 水酸化칼슘을 主劑로한 裹裝劑의 效果는 높은 알카리성이 損傷齒髓組織의 酸性傾向을 中和함으로서 治療을 誘導하는 것으로 推測되고 있다^{13,14)}. 또 이것

은 細胞分裂을 促進시키고 adenosine triphosphatase를 活性化하여 象牙質形成에 큰 도움이 된다고 한다¹⁷⁾. 反對로 높은 酸度가 細胞自體에는 毒性으로 作用하여 細胞分裂에 障礙가 되지만¹⁸⁾ resin 充填例를 比較하면 前者가 훨씬 큰 損傷을 보이고 後者에서는 時日經過에 따라 크게 治療이 이루어져 新生象牙質形成을 볼 수 있다고 한다¹⁹⁾.

齒髓保護目的으로 裹裝劑를 充填에 앞서서 꼭 履行을 한다고 하여도 以上에서 보는 바와 같이 其自體가 生體組織에 미치는 影響은 적지 않은 것으로 生覺된다.

本 實驗에서 얻은 成績은 對照群에서는 細胞增殖이 高密度로 觀察되었으나 이에 比해 모-든群에서 細胞增殖이 惹干의 差異는 있어도 全般적으로 微弱하게 나타나고 있다. 增殖의 抑制되는 것은 resin의 毒性이 크다는 것을 意味하는 것이고 臨床에서는 이 點에 더욱 關心있게 對處해야 할 것으로 思料된다. resin을 넣지 않은 對照群에 比해서 第一群은 增殖이 가장 微弱하고 第三群도 이와 비슷하였고 第二群 및 題四群은 惹干增殖度가 높았으나 對照群에 比해서는 훨씬 낮았다. 換言하면 resin의 毒性은 全群에 影響을 주어 增殖을 抑制하였으나 第三 및 四群에서의 毒性은 第一 및 三群例 보다는 弱한것으로 思料된다. 培養期間이 短時間이기 때문에 長期에 對한 爲害作用은 豫測키 어려우나 徐徐히 恢復될 수도 있지 않을까 推測한다. 生體細胞도 亦是 環境에 適應할 수 있는 能力이 있을것이기 때문이다. 何如間 充填直後에는 resin 充填物에 依한 齒髓爲害作用이 있을것으로 보는 것이 妥當할 것이다.

五. 結 論

四種類의 複合 resin(化學重合型)의 毒性을 究明하기 爲하여 株細胞 L.929를 α -MEM을 培養液으로 하여 上記 resin을 接觸시키면서 5日間 培養하고 細胞數의 增減을 觀察하였다. 複合 resin은 各會社指示대로 polymer와 monomer를 混合하여 開放된 試料容器(8mm 직경, 8mm 높이)에 넣고 底面과 培養液 사이

는 0.22 μ m pore size의 millipore를 介在하고 5%炭酸가스 培養器에서 36.6°C 5日間 培養後 鏡檢하여 다음과 같은 所見을 얻었다.

1. 對照群(空容器)에 比해서 第一群 및 第三群에서 細胞數는 顯著한 減少를 보았다.
2. 第二群 및 第四群에서 第一 및 三群 보다는 細胞數가 稠密하였으나 對照群 보다는 훨씬 적었다.

REFERENCES

1. Eugene W. Skinner and Ralph W. Phillips. The Science of Dental Materials: 6th Edi. pp. 214-236.
2. Smith, D.L. and Schoonover L.C.: Direct filling restoration: dimensional changes resulting from polimerization shrinkage and water resorption. J.A.D.A., 46 540, May, 1953.
3. 閔丙優: 珐瑯質의 酸脫灰에 關한 實驗的 研究. 大韓 齒科保存學會誌, Vol.6, No.1 p. 37~50 1980.
4. Macchi, R.L. and Craig, R.G.: Physical and Mechanical Properties of Composites restorative materials J.A.D.A., 78:328, Feb. 1969.
5. Bunocore, M.G.: A simple method of increasing the adhesion of acrylic filling materials to enamel surface. J. Dent. Res. 34:849-853, 1955.
6. Bunocor, M.G. Matsui, A. and Gwinnett Penetration of resin dental materials into enamel surfaces with references to bonding. Arch. Oral Bio. 13:66-70, 1968.
7. 金英海: 酸處理後 根管內藥物의 浸透에 關한 研究. Vol.14, No.10, Oct.1976, 大齒協會誌.
8. 鮮于良國, 金英海, 嚴正文: Resin에 依한 齒牙의 修復. Vol.10, No.12. Dec.1972, 大齒協會誌.
9. 嚴正文, 金英海: Glass Ionomer Cement 충전에 關하여. Vo.20, No.11, 1982, 大齒協會誌.
10. Beagrie, G.S., Main J.H. and Smith, D.C.: Inflammatory reaction evoked by zinc polyacrylate and zine oxide eugenol cement, Bri. Dent. J. 132:351-357, 1972.
11. Zander H.A.. Reaction of the pulp to Ca (OH)₂ J. of Dent. Res. 18:373-379, 1939.
12. Glass, R.L. and Zander, H.A.: Pulp healing J. of Dent Res. 28:97-107, 1949.
13. Torneck, C.D. and Wagner D.: The effect of calcium hydroxide cavity liner on early cell division in the pulp subsequent to cavity preparation and restoration. J. of Endo. 6(9): 719-723, 1980.
14. Stanley H.R., and Lundy, T. Dycal therapy for pulp exposure. Oral-Surg 34:818-827, 1972.
15. Tronstad L.: Reaction of exposed pulp to Dycal treatment. Oral Surg. 38 945-953, 1974.
16. Kawahara, H. Imanishi Y. and Oshima H.: Biological evaluation on Glass ionomer cement, J. Dent. Res. 58(3) 1080-1086, 1979.
17. Torneck, C.D., Moe H. and Howley T.P.. The effect of calcium hydroxide on porcine pulp fibroblasts in vitro. J. of Endo 9(4) 131-136, 1983.
18. Hanks, C.T. Bergenholz G. and Kim, J.S.: Protein synthesis in vitro, in the presence of Ca(OH)₂ containing pulp capping medicaments. J. of Oral-Patho. 12:356-365, 1983.
19. Hume, W.R.: A new technique for screening chemical toxicity to the pulp of dental restorative materials and procedures. J. of Dent Res. 64:1322-1325, 1985.

– ABSTRACT –

AN EXPERIMENTAL STUDY ON THE TOXICITY OF COMPOSITE RESINS THROUGH TISSUE CULTURE

Prof. Yung Hai Kim

Department of Conservative Dentistry College of Dentistry, S.N.U

The study was to evaluate the toxicity of self curing resins in vitro. Fibroblasts (established cell L-929) were cultured in α -MEM with 4 different resins. Each resin was mixed by the instruction and filled in open end cylinder. These cylinder was placed at the centre of the dish. Millipore filter (pore size, 0.22Um) was also placed between the bottom of the cylinder and the dish. As a control group cylinder without resin was employed in this experiment. The culture dishes were then stored in 5% CO₂ containing incubator for 5 days at the temperature of 36.6°C.

The results were observed microscopically.

1. Two groups showed least cell population compare to ontrol group. (This indicated greater cytotoxicity)
2. Remaining two groups revealed lesser cell population compared to control group. (This indicated lesser cytotoxicity)