

## 근관소독제의 세포독성에 관한 연구

원광대학교 치과대학 치과보존학교실

김재구 · 임미경

Abstract

### A STUDY ON THE CYTOTOXICITY OF ROOT CANAL ANTISEPTIC SOLUTIONS

Jae - Gu Kim, D. D. S., Mi - Kyung Im, D. D. S., Ph. D.

*Department of Conservative Dentistry, College of Dentistry, Wonkwang University*

Two functions of root canal medicaments and irrigants are to reduce microorganisms and to encourage the repair of apical tissues.

The biocompatibility of endodontic materials has been tested using in vitro cell culture techniques.

The purpose of this study was to evaluate and compare the cytotoxic effects of 2 root canal irrigation solutions and 4 antiseptics on HEP-2 and McCoy cells.

Two irrigation solutions were sodium hypochlorite, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and 4 antiseptics were povidone, ethanol, glutaraldehyde and benzalkonium chloride.

Each solutions were serially diluted to 1 : 1, 1 : 10, 1 : 10<sup>2</sup>, 1 : 10<sup>3</sup>, 1 : 10<sup>4</sup>, 1 : 10<sup>5</sup>, 1 : 10<sup>6</sup>. And each diluted solutions were added to the cells and cytotoxic effects were measured with the absorbance of formazan formed cells by ELISA READER.

The results were as follows :

1. Benzalkonium chloride was the most cytotoxic on HEP-2 cell. (P<0.05)
2. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> was the most cytotoxic on McCoy cell. (P<0.05)
3. Povidone and ethanol showed mild cytotoxic effect on HEP-2 and McCoy cell. (P<0.05)

### I. 서 론

근관 치료에서 사용되는 근관 소독제는 근관계에 존재하는 미생물을 감소시키거나 성장을 억제하여 근관 감염을 방지하는데 그 목적이 있다.

그러나 근관 소독제는 치근단 부위에 작용하여 정상 조직에도 위해 효과를 보인다<sup>1)</sup>. 따라서 근관계에 존재하는 미생물에 대한 항균효과는 강력하나

정상조직에는 위해작용이 없거나 적은 근관 소독제를 선택하는 것이 이상적이다.

근관 치료에 사용되는 재료의 생체 적합성에 관하여 생체내 방법 및 생체의 방법을 이용하여 다양하게 보고된 바 있다<sup>2-5)</sup>.

이중 생체의 방법은 재현성과 실험방법의 표준화 면에서 우수하고, 비용이 저렴하며 세포 배양을 이용한 독성검사가 많이 사용되어 왔다<sup>6)</sup>.

그러나 실험에 사용하는 세포의 종류, 실험방법 등에 대하여 일치된 견해가 없으며, 또한 다양한 이들의 연구결과를 서로 비교하기 힘들다<sup>7)</sup>.

Murphy<sup>8)</sup>는 치근단 부위에는 여러종류의 세포가 존재하나 그중 섬유아세포와 조골세포가 가장 많은 부분을 차지하므로 이 세포를 사용하여 실험하는 것이 타당하다고 하였다.

반면 Spangberg<sup>9)</sup>와 Leiskar<sup>10)</sup>, Wennberg등<sup>11)</sup>은 특정한 세포가 다른 세포에 비하여 세포독성 검사에서 우수성이나 예민도등에서 유의한 차이가 없다고 보고한 바 있다.

Koskinen등<sup>12)</sup>은 <sup>51</sup>Cr 방출 정도를 측정된 방법이 간단하며 신속하고 재현성이 좋아서 근관소독제의 독성에 관한 초기평가에 유용하다고 하였다.

NaOCl은 유기조직을 용해시키고 근관을 윤택하게 하며, 염소 이온을 방출하여 강력한 항균 효과를 나타내어 1920년대 이래로 근관 세척액으로 자주 사용되어 왔다.

그러나 NaOCl이 근침공을 넘어가면 부종, 동통, 조직의 괴사등 급성 반응을 일으켜 조직에 대한 독성이 강한 것으로 평가되며 임상에서 사용시에는 주의해야 한다고 하였다<sup>13-15)</sup>.

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>는 NaOCl과 교대로 사용하면 기포발생이 증가되어 근관내의 조직 잔사를 기계적으로 밀어내며, NaOCl의 조직 용해 효과도 증진시키고 두 용액이 지닌 항균력으로 인해 더욱 살균효과가 증진되는 것으로 알려져 있다<sup>16)</sup>.

Glutaraldehyde는 formaldehyde에 비하여 조직에 위해 효과가 적고 항원성이 약해 면역반응을 일으키는 정도가 낮은 것으로 보고되었으<sup>17)</sup>, 치수 절단술에 사용된 바 있다<sup>18)</sup>.

Iodide제제는 세균과 결합후 염을 형성하여 살균 효과를 나타내며 근관 소독제로 사용시 2% 용액이 추천된 바 있다<sup>19)</sup>.

이에 저자는 HEP-2 세포와 McCoy세포를 이용하여 NaOCl, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, povidone, glutaraldehyde, benzalkonium chloride, isopropyl alcohol등 6종의 소독제가 각 세포에 대하여 나타내는 상대적인 독성을 평가하고 또한 세포에 따른 독성 발현의 차이를 비교 연구하고자 하였다.

## II. 실험재료 및 방법

### 소독액

근관소독제로 5% sodium hypochlorite(NaOCl)과 3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 및 10% povidone, glutaraldehyde 원액, 1% benzalkonium chloride, 70% isopropyl alcohol등 6종의 소독제를 대상으로 하였다. 소독액은 증류수로 10배씩 순차적으로 희석하여 원액, 1:10, 1:10<sup>2</sup>, 1:10<sup>3</sup>, 1:10<sup>4</sup>, 1:10<sup>5</sup>, 1:10<sup>6</sup>까지 희석하였다.

### 2. 세포배양

HEP-2 cell(ATCC No. CCL23 passage no. 363), McCoy(ATCC No. CRL 1696 passage no. unknown) 세포를 배양하여 소독액의 세포 독성 효과를 관찰하였다.

배양시에는 세포배양용 플라스크(80cm<sup>2</sup>, Nunc-lon, Denmark)의 배양액을 버린 다음 MEM으로 1회 세척하여 0.1% trypsin을 10ml을 넣고 실온에서 30초간 방치후 버렸다. 바닥에 trypsin이 약간 남은 플라스크를 37°C CO<sub>2</sub>배양기에 5분간 둔 후 세포를 플라스크 바닥에서 떼었다. 5% fetal bovine serum, 3% L-glutamine이 포함된 MEM 10ml을 넣고 세포를 회수하였다. 세포 부유액 0.2ml과 동량의 0.2% trypan blue를 섞어 혈구계산기(hemocytometer)로 세포수를 산정하였다. 세포수를 약 1×10<sup>6</sup>/ml로 맞추어 5ml씩 플라스크에 나누어 분주하고 5% fetal bovine serum, 3% L-glutamine이 든 MEM 20ml을 첨가한 뒤 다시 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 배양기에 배양하였다.

세포는 2~3일만에 계대 배양하여 세포가 충분히 자라면 성장배지(MEM with 10% fetal bovine serum, 3% L-glutamine)를 넣고 실험에 사용하였다.

유지배지는 5% fetal calf serum(Hyclon, USA), penicillin 2500U/ml, streptomycin 250U/ml, bacitracin 0.25U/ml(GIBCO Co., USA)이 든 minimum essential medium(MEM, GIBCO Co., USA)을 사용하였다. 성장배지는 유지배지의 구성에 fetal calf serum을 10% 농도로 하여 사용하였다. 세포는 유지배지에서 배양시킨 후, 실험시작 2일전에 성장배지에서 배양하였다.

### 3. 세포독성실험

75cm<sup>2</sup> 세포배양용 플라스크(Falcon, Beckton Dickinson & Company, USA)에서 배양된 세포를 인산완충용액(phosphate buffered saline, pH 7.2)으로 2회 세척하였다. 0.1% trypsin(Life Technologies Inc. USA)을 약 10ml 넣고 실온에서 30초간 방치한 후 버렸다. 플라스크 바닥에 남은 잔여액이 든 플라스크를 37°C CO<sub>2</sub> 배양기(Forma Scientific, CH/P Water-Jacketed Incubator, USA)에 5분간 둔 후 플라스크 바닥에 붙은 세포를 떼었다. 10% fetal calf serum, L-glutamine이 포함된 MEM 10ml을 넣고 세포를 추출하여 원추시험관에 옮겼다. 1,000rpm (비전과학사, VS-5500, 한국)에서 약 10분간 원심분리한 후 다시 MEM으로 세포를 부유시켰다. 세포수를 10<sup>6</sup>/ml로 조정된 뒤, 96-well microplate (Nunclon, Denmark) 각 well에 100μl씩 분주하였다. 세포수는 세포부유액 0.2ml과 동량의 0.2% trypan blue를 섞어 hemocytometer로 산정하였다. 37°C CO<sub>2</sub> 배양기에서 약 16시간 동안 배양한 뒤, 준비된 소독액을 50μl씩 분주한다. 이때 소독액은 원액 및 희석된 소독액을 0.45um 필터(Gelman Sciences, USA)로 여과한 뒤 멸균된 시험관에 준비하였다.

약 16시간 소독액에 노출된 HEp-2 및 McCoy 세포의 독성효과를 보기위해 2% MTT in PBS(C<sub>18</sub>H<sub>16</sub>BrN<sub>5</sub>S, 98%, Janssen Chemica, Belgium) 50μl를 넣고 37°C, CO<sub>2</sub> 배양기에 4시간 둔 후, dimethyl sulfoxide(DMSO, MW 78.1, Merck) 50μl씩 첨가하였다. Tray mixer(Fujuzoki Pharmaceutical Co. FM 5-1, Japan)로 용액을 균일하게 섞었다. ELISA READER II (Bering, Germany)로 측정파장 570nm, 참고파장 650nm에서 흡광도를 측정하였다. 위의 전과정을 6회 반복실험하였다.

### III. 실험성적

HEp-2 및 McCoy 세포에 대한 소독액의 독성 효과는 Table 1-6와 같다.

Hep-2 세포에 대한 독성효과를 보면(Table 6), Benzalkonium은 매우 독성이 강하여 1:10<sup>6</sup> 희석액에서도 MTT가 발색되지 않았다. NaOCl 역시 매우 독성이 강하여 1:10<sup>5</sup>희석액까지 MTT가 발색되지 않고, 1:10<sup>6</sup> 희석액에서 약간 발색반응을 나타내

었다. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>는 1:10<sup>6</sup> 희석액에서는 뚜렷한 발색을 나타내었다(Table 2). 반면 povidone은 1:10<sup>3</sup> 희석액까지는 MTT 발색반응을 나타내지 않았으나 1:10<sup>4</sup> 희석액부터 발색이 되기 시작해 1:10<sup>4</sup> 희석농도에서는 HEp-2 세포에 대한 독성 효과가 없다고 판정하였다(Table 3). Isopropyl alcohol은 본 실험에서 사용한 6종의 소독액중 HEp-2 세포에 대한 독성효과가 가장 약하게 나타나, 1:10<sup>2</sup> 희석액까지는 MTT 발색이 되지 않았고 1:10<sup>3</sup> 희석액부터 MTT가 발색이 되었다(Table 4).

희석에 의한 효과에서(Fig. 1) 100배로 희석되기 전까지는 6종의 소독제에서 독성의 차이가 나타나지 않았으나, 1000배로 희석시에는 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>가 독성이 약화되었으며, 10<sup>6</sup>배로 희석하면 6종의 소독제는 각각 다른 흡광도 값이 나타나 다양한 세포 독성을 보였다. Ethanol은 10<sup>3</sup>, povidone은 10<sup>4</sup>배 희석부터 각각 현저하게 흡광도 값이 증가된 반면, 나머지 4종의 소독제는 10<sup>6</sup>배로 희석시에만 독성 감소 효과를 보였다.

McCoy 세포에 대한 소독액의 독성효과에서 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, NaOCl, benzalkonium chloride, glutaraldehyde는 모두 강한 세포독성효과를 보였고, povidone과 isopropyl alcohol은 비교적 약한 세포독성을 나타냈다(Fig. 2).

음성대조군의 흡광도가 2.17인 것과 비교하면, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>는 1:10<sup>6</sup> 희석액에서도 흡광도가 0.1 이하로 나와 McCoy에 대해 매우 큰 독성을 나타내었다(Table 2).

NaOCl은 1:10<sup>3</sup> 희석액까지 흡광도 0.1이하로 독성이 매우 컸고, 1:10<sup>6</sup>에서 0.25로 거의 MTT 발색이 되지 않았다(Table 1). Glutaraldehyde는 원액과 희석액이 큰 차이 없이 흡광도가 0.22~0.42의 범위를 보였다(Table 5). Benzalkonium chloride 역시 흡광도가 0.05부터 0.39정도의 낮은 흡광도를 보였다(Table 6).

반면 povidone은 1:10<sup>5</sup> 희석액의 MTT 발색이 1.13으로 통계적으로 유의있게 증가하였고(P<0.05), 1:10<sup>6</sup> 희석액(1.75)은 음성대조군(1.68)보다 오히려 흡광도가 높게 나와 독성효과가 없다고 판정하였다(Table 3).

Isopropyl alcohol은 1:10<sup>3</sup> 희석액부터 통계적으로 유의한(P<0.05) 높은 흡광도를 보여 소독제 중 가장 약한 세포독성을 나타내었다(Table 4).

희석에 의한 효과에서는(Fig. 2), 1000배로 희석

Table 1. Absorbance of HEp-2 and McCoy cells on NaOCl. The values are read by ELISA-READER and the value of control groups were 2.5000\*(.0000\*\*) and 1.5002(.2089) respectively.

	1 : 1	1 : 10	1 : 10 <sup>2</sup>	1 : 10 <sup>3</sup>	1 : 10 <sup>4</sup>	1 : 10 <sup>5</sup>	1 : 10 <sup>6</sup>
Hep-2	.0515* (.0129**)	.0187 (.0011)	.0362 (.0064)	.0787 (.0037)	.0960 (.0159)	.1607 (.0223)	.6708 (.1711)
McCoy	.0123 (.0000)	.0147 (.0018)	.0237 (.0058)	.0792 (.0162)	.1730 (.0334)	.2698 (.0317)	.2497 (.0135)

mean\*, SE\*\*

Table 2. Absorbance of HEp-2 and McCoy cells on H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. The values are read by ELISA-READER and the value of control groups were 2.5000\*(.0000\*\*) and .1720(.0704) respectively.

	1 : 1	1 : 10	1 : 10 <sup>2</sup>	1 : 10 <sup>3</sup>	1 : 10 <sup>4</sup>	1 : 10 <sup>5</sup>	1 : 10 <sup>6</sup>
Hep-2	.0692* (.0042**)	.0280 (.0013)	.0237 (.0013)	.0395 (.0034)	.0757 (.0125)	.2662 (.0882)	1.3382 (0.882)
McCoy	.0248 (.0032)	.0270 (.0014)	.0372 (.0019)	.0383 (.0048)	.0342 (.0049)	.0600 (.0052)	.0797 (.0112)

mean\*, SE\*\*

Table 3. Absorbance of HEp-2 and McCoy cells on Povidone. The values are read by ELISA-READER and the value of control groups were 2.5000\*(.0000\*\*) and 1.6802(.2093) respectively.

	1 : 1	1 : 10	1 : 10 <sup>2</sup>	1 : 10 <sup>3</sup>	1 : 10 <sup>4</sup>	1 : 10 <sup>5</sup>	1 : 10 <sup>6</sup>
Hep-2	.0427* (.0091**)	.0495 (.0026)	.0622 (.0037)	.1288 (.0308)	1.7083 (.3443)	2.5000 (.0000)	2.5000 (.0000)
McCoy	.0883 (.0035)	.0283 (.0024)	.1097 (.0339)	.1537 (.0476)	.1452 (.0159)	1.1328 (.0787)	1.7505 (.0649)

mean\*, SE\*\*

Table 4. Absorbance of HEp-2 and McCoy cells on Ethanol. The values are read by ELISA-READER and the value of control groups were 1.4883\*(.0996\*\*) and .9275(.2073) respectively.

	1 : 1	1 : 10	1 : 10 <sup>2</sup>	1 : 10 <sup>3</sup>	1 : 10 <sup>4</sup>	1 : 10 <sup>5</sup>	1 : 10 <sup>6</sup>
Hep-2	.3558* (.0882**)	.1245 (.0229)	.1300 (.0074)	1.0472 (.3571)	1.3870 (.4977)	2.1812 (.1427)	1.3717 (.1884)
McCoy	.1572 (.0298)	.1662 (.0190)	.1378 (.0064)	.5470 (.1667)	.7313 (.2296)	.8702 (.2430)	.7130 (.1678)

mean\*, SE\*\*

Table 5. Absorbance of HEp-2 and McCoy cells on Glutaraldehyde. The values are read by ELISA-READER and the value of control groups were 2.5000\*(.0000\*\*) and 1.6542(.2040) respectively.

	1 : 1	1 : 10	1 : 10 <sup>2</sup>	1 : 10 <sup>3</sup>	1 : 10 <sup>4</sup>	1 : 10 <sup>5</sup>	1 : 10 <sup>6</sup>
Hep-2	.2843* (.0179**)	.2963 (.0112)	.3655 (.0437)	.2578 (.0352)	.2563 (.0031)	.2937 (.0254)	1.6953 (.0554)
McCoy	.2170 (.0020)	.2478 (.0146)	.2978 (.0426)	.3240 (.0490)	.3573 (.0911)	.4127 (.1223)	.2310 (.0227)

mean\*, SE\*\*

Table 6. Absorbance of HEp-2 and McCoy cells on Benzalkonium chloride. The values are read by ELISA-READER and the value of control groups were 1.5470\*(.0896\*\*) and 1.3502(.1725) respectively.

	1 : 1	1 : 10	1 : 10 <sup>2</sup>	1 : 10 <sup>3</sup>	1 : 10 <sup>4</sup>	1 : 10 <sup>5</sup>	1 : 10 <sup>6</sup>
Hep-2	.0485* (.0092**)	.1117 (.0206)	.0667 (.0038)	.1163 (.0070)	.1237 (.0053)	.1395 (.0088)	.1312 (.0064)
McCoy	.0490 (.0119)	.0648 (.0044)	.1007 (.0099)	.1857 (.0200)	.1995 (.0040)	.3898 (.0326)	.2125 (.0533)

mean\*, SE\*\*

시 부터 각 소독제는 흡광도 값이 차이가 나타나서 ethanol은 독성감소 효과가 1000배 희석한 경우부터 나타났고, povidone은 10<sup>6</sup>배 희석부터 급격한 독성 감소가 나타나 가장 높은 흡광도 값을 보였다. Glutaraldehyde, Benzalkonium chloride, NaOCl, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 등 4종의 소독제는 106배로 희석하여도 흡광도 값이 감소되지 않아서 독성이 강하게 지속되었다.

#### IV. 총괄 및 고찰

근관 치료에서 사용되는 용액의 대부분은 소독효과를 국소적으로 발휘하는 소독제이며 정상조직에도 독성을 나타낸다. 따라서 소독효과는 크고 정상조직에 위해 효과는 적은 소독제나 근관 세척액을 선택하는 것이 이상적이다.

생체재료의 생물학적 평가에 관하여는 아직 명확한 기준이 설정되어 있지 않으며, ISO<sup>20)</sup>에서는 technical report를 제시하고 많은 실험과 연구 후에 이들을 검사 기준으로 확립하려 하였다.

근관 치료에 사용되는 재료 중 소독제나 세척액의 세포독성 검사에 관한 연구는 적으며, Autian<sup>21)</sup>과

Wennberg<sup>22)</sup>, Spangberg등<sup>23)</sup>은 세포 배양을 이용한 실험방법과 조직 매식 및 혈관 투과도를 이용하여 근관 치료에 사용되는 용액에 대한 실험을 시행한 바 있다. 각 실험에서 사용된 방법은 다르지만 이들의 연구 결과간에는 상관관계가 좋은 것으로 나타났다.

Koskinen등<sup>12)</sup>은 근관치료를 사용되는 7종의 용액이 사람의 섬유아세포 및 lymphoblast에 대해 미치는 세포독성에 대해 연구한 바 있다. <sup>51</sup>Cr 방출법을 이용한 실험에서 lymphoblast가 섬유아세포에 비하여 좀 더 감수성이 좋은 것으로 나타났으나, <sup>51</sup>Cr 방출법은 소독액의 세포독성을 측정하는 방법으로는 적절하지 않은 것으로 보고하였다.

임상에서 사용시에 sodium hypochlorite가 심한 독성을 나타낸 증례가 보고된 바 있다<sup>13-15)</sup>.

NaOCl이 근첨공을 넘어가게 되면 심한 동통과 부종 및 혈종, 조직의 괴사와 농양등의 반응이 나타난다. 이는 NaOCl의 산화효과에 따른 인체의 염증반응으로 인하여 나타나는 것으로 알려져 있다.

이와 같은 NaOCl의 합병증을 예방하기 위하여는 rubber dam을 사용하거나, 근관내 주입시에 과도한 압력을 가하지 않아야 하며, 근관내에 irrigation sy-

ringe가 지나치게 끼지 않게 주의하여야 한다.

2% glutaraldehyde를 근관 세척제로 사용시 상아질을 통한 확산 효과가 없어서 치근단 조직에 자극을 유발하지 않는다<sup>24)</sup>. 또한 근관의 상아질을 연화시켜 근관 형성에 도움을 주는 것으로 알려져 있다<sup>25)</sup>.

Spangberg<sup>26)</sup>는 Iodine 제제의 항균효과 및 HeLa 세포를 이용한 독성 실험에서 NaOCl이나 Formocresol등에 비하여 독성이 현저히 낮다고 보고하였다.

세포독성효과를 판정할 수 있는 여러 방법 중에서, 본 연구에서는 MTT법을 사용하였다. MTT법은 세포내 소기관인 미토콘드리아(mitochondria)에서 MTT를 기질로 녹색의 formazan 결정체가 형성되고, dimethyl sulfoxide(DMSO)용액을 첨가하면 formazan결정체가 용해되어 보라색으로 변하게 되는 발색반응을 이용한 검사이다<sup>27)</sup>. 발색된 보라색의 formazan결정체는 ELISA READER를 이용하여 기계적으로 단시간내에 세포의 독성정도를 측정할 수 있다.

MTT 방법은 세포의 생존도를 보기위해 흔히 사용되는 방사능 동위원소를 이용한 측정법보다 예민도(sensitivity), 특이도(specitivity)가 떨어진다. 그러나 방사능 물질의 오염 및 폐기문제, 인체에 미치는 위험등을 고려하면, MTT법은 결과판독이 빠르고 저렴하여 조작이 간편한 장점이 있다.

ELISA READER의 판독이 용이하도록 96-well microplate(Nunclon, Denmark)를 사용하였다. 이 plate는 U-shape이며 well내부는 특수처리 되어 세포를 24시간 방치시키면 바닥에 부착된다. 발색반응이 일어난 plate는 먼저 육안으로 발색여부를 관찰한 후, ELISA로 측정하였다.

HEp-2 세포와 McCoy세포를 대상으로 소독액의 세포독성효과를 실험하였는데, HEp-2 세포는 사람의 후두에서 유래한 epidermoid carcinoma 세포이며, McCoy는 원숭이에서 유래한 영구세포주이다.

HEp-2 세포에서는 benzalkonium chloride가 가장 독성효과가 크고, NaOCl, glutaraldehyde, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, povidone, ethanol 순으로 독성이 감소되어 나타났다.

McCoy 세포에서는 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>가 가장 독성효과가 강하였고, NaOCl, glutaraldehyde, benzalkonium이 비슷하게 독성효과가 강하게 나타났으며, povidone,

ethanol은 비교적 약한 세포독성을 보였다. 세포독성이 큰 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, NaOCl, glutaraldehyde, benzalkonium chloride에서는 1:10<sup>5</sup>과 1:10<sup>6</sup> 희석액까지도 세포독성 효과를 나타내었다.

반면 povidone은 HEp-2에서는 1:10<sup>3</sup> 희석액까지, McCoy세포에서는 1:10<sup>4</sup> 희석액까지 세포독성 효과를 보였고, 그 이상의 희석액에서는 현저히 세포독성효과가 감소하였다. 가장 독성효과가 작게 나타난 ethanol은 HEp-2, McCoy 세포에서 1:10<sup>2</sup> 희석액까지만 세포독성 효과가 나타났다.

두 세포에 대해 각 소독제가 나타낸 세포독성을 비교하면, NaOCl, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, benzalkonium chloride는 두세포 모두에서 10<sup>6</sup>배로 희석하여도 흡광도 값이 증가되지 않아서 독성이 계속 강하게 유지되었다. 또한 povidone과 ethanol등은 희석에 의한 독성감소 효과가 나타나 각 소독제에 대하여 두세포가 비슷한 독성을 나타내었다.

McCoy 세포의 음성대조군은 HEp-2와 비교하여 흡광도가 2.5 이상으로 나온 것은 없었고 1.5 내외였다. 그 원인으로 McCoy 세포는 HEp-2 세포에 비하여 MTT를 이용하는 능력이 적은 것으로 추정할 수 있다. 또한 세포수가 적거나 세포의 대사상태가 좋지 않은 것 등을 고려할 수 있다.

음성대조군에서 흡광도가 2.5로 나온 것은, ELISA READER가 판독할 수 있는 최대의 흡광도 수치이며 또한 흡광도가 0.2 혹은 0.3 이하의 낮은 수치는 측정할 때마다 약간씩 변할 수 있어, 이를 비교하는 것은 의미가 없다고 생각된다. 유의할만한 것은 음성대조군의 흡광도가 차이가 나고, ethanol에서 진한 농도의 용액이 묽은 농도의 용액보다 높게 나타난 것 등이다. 이는 각 well에 들어간 세포수나, 성장율이 약간씩 차이가 나거나 미생물등이 오염되었을 가능성을 생각할 수 있다.

NaOCl과 glutaraldehyde, benzalkonium에서는 음성대조군의 흡광도가 1.5 내외로 나왔으며, 희석액에서의 흡광도는 0.02에서 0.41까지 다양하였지만, 이들 희석액의 흡광도 차이는 MTT 발색에 의한 것이라기 보다는 용액자체의 색이나 세포용해에 의한 것이라고 보는 것이 타당할 것 같다.

Povidone은 비교적 세포독성효과가 약하게 나타났는데, 1:10<sup>5</sup>, 1:10<sup>6</sup> 희석액은 음성대조군과 비교하여 거의 세포독성이 나타나지 않았다. 임 등<sup>28)</sup>에

의하면 povidone은 매우 강한 항균효과를 가지고 있어서 소독제로서 유용하며, 본 연구를 통해 세포 독성효과도 낮기 때문에, 그 유용성이 더욱 커졌다고 사료된다. 반면 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>는 항균효과도 작고, 세포독성 효과도 커서, 소독제로서의 유용성이 감소될 수 있다고 생각된다. NaOCl은 항균효과가 크지만, 본 연구에서 세포독성효과도 커서 앞으로 세포독성효과가 적은 소독액 개발이 추구되어야 할 것으로 사료된다.

또한 povidone과 glutaraldehyde는 항균효과도 큰 것으로 보고된 바 있는데 Glutaraldehyde는 HEp-2 세포에서 1 : 10<sup>6</sup>배로 희석시에만 독성이 감소되었을 뿐 기타 농도와 McCoy 세포에서 독성이 강하게 나타나서 세포독성 효과도 큰 것으로 보인다.

본 연구에서는 HEp-2 및 McCoy세포를 이용하여 단순히 생체의 실험으로 소독액의 독성상태를 비교한 것일 뿐, 인체내에서도 같은 결과가 나타날 것으로 기대할 수는 없다. 인체내에서는 면역기능에 관여하는 T림프구, B림프구, 단구, 중성구등과 면역글로블린, lymphokine뿐 아니라, 섬유아세포가 강한 물리적 보호벽을 형성하고 있기 때문이다. 그러나 실제로 생체내 상태에서 실험하기는 불가능하고 이상적인 모델을 설정하기는 더욱 어려우므로 세포배양을 이용하여 간접적으로 소독액의 독성효과를 비교하였다. 추후에는 사람에서 분리 배양한 섬유아세포나 조골 세포, 혈액 세포등에 대한 독성실험이 계속되어야 할 것으로 사료된다.

## V. 결 론

HEp-2 세포와 McCoy 세포를 이용하여 NaOCl, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, povidone, glutaraldehyde, benzalkonium chloride, isopropyl alcohol등 6종의 소독제가 각 세포에 대하여 나타내는 상대적인 독성을 평가하고 또한 세포에 따른 독성 발현의 차이를 비교 연구하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. HEp-2 세포에 대하여 Benzalkonium chloride가 가장 강한 세포독성을 보였다(P<0.05).
2. McCoy 세포에 대하여 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>가 가장 강한 세포독성을 보였다(P<0.05).
3. Povidone과 Ethanol은 HEp-2와 McCoy 세포에 모두 약한 세포 독성을 보였다(P<0.05).

1. Pashley EL, Birdsong NL : Cytotoxic effects of NaOCl on vital tissues. J Endod 11 : 525, 1985.
2. Tronstad L, Barnett F, Flax M : Solubility and biocompatibility of calcium hydroxide-containing root canal sealers. Endod Dent Traumatol 4 : 152, 1988.
3. Pettersen AH, Helgeland K : Evaluation of biologic effects of dental materials using four different cell culture techniques. Scand J Dent Res. 85 : 291, 1977.
4. Guttuso J, : Histopathologic study of rat connective tissue responses to endodontic materials. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 16 : 713, 1963.
5. Nakamura H, Sakakibara F, Matsunoto Y, Hirano S, Hayakawa H, Sakai M, Yip M : Study of the cytotoxicity of root canal filling materials. J Endod 12 : 156, 1986.
6. Browne RM : The in vitro assessment of the cytotoxicity of dental material-does it have a role ? Int Endod J 21 : 58, 1988.
7. Hensten-Pettersen A : Comparison of the methods available for assessing cytotoxicity. Int Endod J 21 : 89, 1988.
8. Murphy WM. : The testing of endodontic materials in vitro. Int Endod J 21 : 170, 1988.
9. Spangberg LS. : Correlation of in vitro and in vivo screening tests. J Endod 4 : 296, 1978.
10. Leiskar J, Hegeland K : A methodologic study of the effect of dental materials on growth and adhesion of animal cells in vitro. Scand J Dent Res 80 : 120, 1972.
11. Wennberg A, Hasselgren G & Tronstad L : A method for toxicity screening of biomaterials using cells cultured on millipore filters. J Biomed Mat Res 13 : 109, 1979.
12. Koskinen KP, Rahkamo A & Tuompo H. : Cytotoxicity of some solutions used for root canal treatment assessed with human fibroblasts and

- lymphoblasts. *Scand J Dent Res* 89 : 71, 1981.
13. Becker GL, Cohen S, Borer R. : The sequelae of accidentally injecting sodium hypochlorite beyond the root apex. *Oral Surg Med Oral Pathol* 38 : 633, 1974.
  14. patterson CJ, Molundia AC : Apical penetration by a root canal irrigant : a case report. *Int Endod J* 22 : 197, 1989.
  15. Becking AG : Complications in the use of sodium hypochlorite during endodontic treatment. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 71 : 346, 1991.
  16. Grossman LI, Oliet S, Carlose DR : Endodontic Practice eleventh edition p189. Lea & Febiger, Philadelphia, 1988.
  17. Ranly DM : A comparative study of the effects of formaldehyde, glutaraldehyde, and dimethylsuberimidate on enzyme activity in the bovine dental pulp. *Acta Odontol Pediat* 5 : 5, 1984.
  18. Ranly DM, Lazzeri EP : A biochemical study of two bifunctional reagents as alternatives to Formocresol. *J Dent Res* 62 : 1054, 1983.
  19. Grossman LI, Oliet S, Carlose DR : Endodontic practice eleventh edition p230. Lea & Febiger, Philadelphia, 1988.
  20. ISO(International Organization for Standardization) : Technical Report 7405, NIOM, Scandinavian Institute of Dental Materials, 1984.
  21. Autian J : The use of rabbit implants and tissue culture tests for the evaluation of dental materials. *Int Dent J* 20 : 481, 1970.
  22. Wennberg A : An in vitro method for toxicity evaluation of water-soluble substances. *Acta Odontol Scand* 34 : 33, 1976.
  23. Spangberg L, Rutberg M, Rydinge E : Biologic effects of endodontic antimicrobial agents. *J Endo* 5 : 166, 1979.
  24. Wemes JC, Purdell-Lewis D, Jongebloed W, Vaalburg W : Diffusion of carbon 14-labeled Formocresol and glutaraldehyde in tooth structure. *Oral Surg* 54 : 341, 1982.
  25. Wemes JC, Arends J : The hardness of bovine dentin after glutaraldehyde treatment. *Oral Surg* 58 : 722, 1984.
  26. Spangberg L, Bystrom B, Langeland K : Biologic effects of dental materials 3. Toxicity and antimicrobial effect of endodontic antiseptics in vitro. *Oral Surg* 36 : 856, 1973.
  27. Mosmann T : Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival : Application to proliferation and cytotoxic assays. *J Immunol Method* 65 : 55, 1983.
  28. 임미경, 이정식 : 근관 세척액의 항균효과에 관한 연구. *대한 치과 보존 학회지* 15 : 187, 1990.