

Glass-ionomer Cement 이장재의 세포독성에 관한 연구

경희대학교 치과대학 보존학교실

나영민 · 민병순 · 최호영 · 박상진 · 최기운

목 차

- I. 서 론
- II. 실험재료 및 방법
- III. 실험성적
- IV. 총괄 및 고안
- V. 결 론
 - 참고문헌
 - 영문초록
 - 사진부도

I. 서 론

Wilson과 Kent¹⁾에 의해 소개된 glass-ionomer cement는 불소가 함유된 calcium aluminosilicate glass의 미세한 분말입자와 용액으로는 tartaric acid와 itaconic acid의 co-polymer와 40~50% polyacrylic acid의 수용액으로 구성되어 있으며, 분말과 액을 혼합하면 polyacrylic acid의 카복실기가 이온화되어 카복실레이트의 음이온을 형성하고 수소이온은 유리된다. 이 수소이온이 분말의 표면으로 침투해 들어가 silicious hydrogel을 형성하고 이때 분말에서 칼슘이온과 킬레이트를 형성하여 calcium polyacrylate와 aluminum polyacrylate로 경화반응이 일어난다.

Glass-ionomer cement는 불소가 유리되어 우식예방 효과가 있고^{2,5)}, 용액인 polyacrylic acid는 분자량이 커서 상아세관내로 침투가 되지 않고 상아세관의 Ca⁺²과 쉽게 반응하여 불용성의 염을 형성함으로써 치수에 자극이 적다⁶⁻⁸⁾. 또한 치질과 cement간의 화학적 결합으로⁹⁾ 미세변연누출을 막을 수 있으며¹⁰⁻¹⁴⁾, 높은 마모 저항성, 낮은 열팽창계수, 복합레진과 유사한 강도 및 심미성 등의 장점이 있어 치경부 마모증 및 칩식부위의 수복, 치아의 지각과민증 치료, 수복물의 합착 및 치면 열구 전색용 등으로 널리 사용되고 있다.

Glass-ionomer cement의 물리적 성질에 대해서는 많은 연구가 이루어져 왔으나¹⁵⁻¹⁷⁾ 생물학적 적합성에 대해서는 많은 연구와 논란이 있다¹⁸⁻²³⁾. Cooper¹⁸⁾, Plant등²¹⁾ 및 Ücok²⁴⁾의 생체내 실험에서 glass-ionomer cement가 치수에 중등도의 염증반응을 나타냈다고 보고 하였으나 Tobias등⁶⁾, Kawahara등⁷⁾, Pameijer등⁸⁾ 및 Dahl과 Tronstad²⁵⁾의 생체내 실험에서는 독성이 미약하게 나타났다고 하였으며 Kawahara등⁷⁾, Dahl과 Tronstad²⁵⁾, Hanks등²⁶⁾, Meryon등²⁷⁾ 및 Müller등²⁸⁾의 세포배양법에 의한 생체의 실험에서는 독성이 큰 것으로 보고하였다. 한편 Plant등²¹⁾, Paterson과 Watts²⁹⁾ 및 Hume과 Mount³⁰⁾는 수복용 glass-iono-

mer cement하방에 이장재의 도포를 권장하였다.

Glass-ionomer cement가 상아질과 화학적으로 결합하기 위해서는 상아질과 직접 접촉되어야 하므로 glass-ionomer cement의 분말입자를 작게하고 유동성을 증가시키며 치수자극성이 적은 이장재용 glass-ionomer cement가 개발되었다.

이장재용 glass-ionomer cement는 산부식 및 미세누출의 감소 등의 장점을 가지고 있어 복합레진과 glass-ionomer cement의 장단점을 보완한 sandwich technique 또는 double-laminated technique이 Mclean등³¹⁾에 의하여 개발된 이래 널리 사용되고 있으며, 최근에는 경화초기의 수분과 건조에 대한 민감성을 줄이고 인성 및 마모저항성을 높이고 조작을 용이하게 한 광중합형 이장재용 glass-ionomer cement가 개발되어 사용되고 있다.

이와 같이 이장재용 glass-ionomer cement가 복합레진의 이장재등으로 널리 사용되고 있으나 이장재용 glass-ionomer cement의 생물학적 적합성에 대한 연구는 미약한 실정으로 생체내의 환경을 가능한 한 재현하기 위하여 치수 섬유아세포를 실험실에서 배양하여 수종의 화학중합형과 광중합형 이장재용 glass-ionomer cement의 세포독성을 수소이온농도 측정, 사립체내의 succinate dehydrogenase(SDH)활성도 검사, ⁵¹Chromium 방출량 검사, 생존 세포수 산정 및

생존률 검사와 ¹⁴C-leucine 결합률 검사 등의 방법으로 관찰하여 다소의 지견을 얻었기에 보고하는 바이다.

II. 실험재료 및 방법

1. 시편 제작

실험에 사용한 재료는 2종의 화학중합형 이장재용 glass-ionomer cement와 2종의 광중합형 이장재용 glass-ionomer cement로써 각각 재료회사의 지시대로 혼합하여 내경 7mm, 높이 2mm의 polycarbonate tube에 주입, 경화시켜 실험용 시편을 제작하였고 이중 광중합형 glass-ionomer cement는 광조사기 (Optilux, Demetron research Co.)를 이용하여 30초간 광조사하여 중합, 경화시켰으며 대조군은 1.5% bactor agar를 상기의 tube에 채워 실험에 이용하였다(Table 1).

2. 치수 섬유아세포의 배양

치수의 섬유아세포를 배양하기 위하여 교정치료를 위하여 발거한 치수질환이 없는 소구치의 치수조직을 무균적으로 채취하여 즉시 세포배양액 (Dulbeco's modified Eagle's medium, DMEM)에 넣어 tissue explantation 방법으로 37°C, 5% CO₂배양기 (National Hei-nicke Co., U.S.A.)에서 배양하였다. 즉 치수

Table 1. Glass-ionomer cement liners used in this study

Materials	Type	Manufacturer	Batch NO.	P/L Ratio
GC lining cement	Chemical	G C, Japan	P : 251292 L : 230201	1.2 : 1
Ketac-bond	Chemical	ESPE, Germany	P : V177 L : V177	3.4 : 1
Vitrebond	Light	3M, U.S.A.	P : 2170 L : 7512L	1.4 : 1
Fuji lining LC	Light	G C, Japan	P : 270212 L : 250211	1.4 : 1

(P : powder, L : liquid)

조직을 1mm³의 크기로 자른 다음 이 조직단편들을 세포배양용 접시 (직경 60mm, Costar, Cambridge, MA, U.S.A.)에 떨어지지 않도록 부착시킨 다음 세포배양액을 조심스럽게 부어 37°C, 5% CO₂ 배양기에서 주당 2~3회 배양액을 교체하면서 치수 섬유아세포가 단층을 형성할 때까지 배양하였다. 치수세포가 단층을 형성하면 배양액을 제거하고 Ca²⁺ 및 Mg²⁺이 제거된 Hank's balance salt 용액 (Gibco, Grand Island, N.Y., U.S.A.)으로 세포를 세척한 후 0.05% trypsin-0.01% ethylenediaminetetraacetic acid(EDTA), (Gibco, Grand Island, N.Y., U.S.A.) 용액으로 처리하여 날개의 치수 섬유아세포를 유리시켰다. 유리된 치수 섬유아세포는 우태아 혈청 (fetal bovine serum)이 10% 첨가된 DMEM 배양액에 1.0×10⁴ cells/ml의 농도로 부유시켜 75 cm² 세포배양용 플라스크 (Costar, Cambridge, MA, U.S.A.)당 10ml씩 넣어 37°C, 5% CO₂ 배양기에서 단층을 형성할 때까지 2차 배양을 하였다. 2차 배양으로 세포가 단층을 형성하면 0.05% trypsin-0.01% EDTA로 처리하여 세포를 수거하고 -196°C의 액체질소에 보관하였으며 각각의 실험은 이들 냉동보존된 세포를 해동시켜 3차 배양한 치수 섬유아세포를 이용하였다.

3. 실험방법

1) 수소이온농도(pH) 측정

상기의 제작된 시편은 pH 7.0으로 조정된 5ml의 증류수에 각각 나누어 넣고 실온에서 1시간, 2시간, 4시간, 24시간 및 48시간 동안의 수소이온농도의 변화를 pH meter (Beckman, φ34 pH meter)로 측정하였다.

2) SDH에 의한 세포독성 검사

직경 60mm의 세포배양용 접시 (Costar, Cambridge, MA, U.S.A.)에 직경 47mm, pore size 0.47mm의 millipore filter (Millipore Co., Bedford, MA, U.S.A.)를 넣고 그 위에 filter 고정용 wire ring을 올려놓아 배양액에 의해서

millipore filter가 부상되는 것을 방지하였다. 여기에 2.0×10⁶ cells/ml의 치수 섬유아세포 부유액 3ml씩을 분주하여 37°C, 5% CO₂ 배양기에서 24시간 동안 배양하였다. 24시간 후 millipore filter를 배양접시로부터 꺼내어 1.5% 한천 - 5% 우태아 혈청이 함유된 DMEM의 한천 표면에 millipore filter의 세포면이 접촉되도록 잘 밀착시키고 재료를 혼합한 후 즉시 millipore filter위에 올려놓고 2시간, 4시간, 24시간 및 48시간 동안 37°C, 5% CO₂ 배양기에서 배양하였고, 또한 재료를 혼합한 후 즉시 그리고 37°C, 100% humidity 배양기에서 각각 5분, 30분, 1시간 및 24시간 동안 경화된 시편을 millipore filter위에 올려놓고 37°C, 5% CO₂ 배양기에서 24시간 동안 배양하였다. 배양시간이 경과되면 시편을 제거하고 한천으로부터 millipore filter를 조심스럽게 분리한 다음 succinate dehydrogenase 염색용액 (2.5M disodium Succinate 0.1ml, nitrobluetetrazolium (4mg/ml) 2.5ml, 0.2M tris-Hcl buffer, pH 7.4, 2.5ml, 0.005M MgCl₂ 1ml 및 증류수 3ml의 혼합액, Sigma Chemical Co., U.S.A.) 0.9ml에 담가 37°C에서 6시간 동안 염색하였다. 염색 후 millipore filter를 phosphate buffered saline (PBS) 용액에서 2~3회 세척한 후 15% formalin-saline 용액에서 15~30분간 고정하고 증류수에 2-3회 수세, 건조하여 염색안된 부위의 직경을 mm단위로 측정하였다.

3) Glass-ionomer cement 분말과 액의 SDH에 의한 세포독성 검사

Glass-ionomer cement의 분말과 액을 각각 PBS용액과 1:1로 한 혼합물에 고압 멸균 처리된 직경 5.5mm의 Whatmann filter paper (Cat. No. 3030917)를 적신 후 앞에서 기술한 바와 같이 세포가 배양된 millipore filter위에 밀착시켜 37°C, 5% CO₂ 배양기에서 24시간 배양하였다. 배양이 끝나면 Whatmann paper를 제거하고 SDH염색을 시행하여 염색안된 부위의 직경을 mm단위로 측정하였다.

4) ⁵¹Chromium 방출량 검사

Spångberg와 Al-Nazhan의 방법³²⁾을 수정하여 4×10^6 의 치수 섬유아세포를 75cm^2 세포 배양용 플라스크(Costar, Cambridge, MA, U.S.A.)에 넣고 배양한 후 배양액을 제거하고 새롭게 제조한 배양액 10ml로 교체한 다음 $20 \mu\text{Ci}$ 의 $^{51}\text{Chromium}$ (New England Nuclear, Du Pont Co., Wilmington, DE, U.S.A.)을 넣고 37°C , 5% CO_2 배양기에서 24시간 배양하여 $^{51}\text{Chromium}$ 을 세포에 표지 (labeling)시켰다. 24시간 표지한 후 세포를 수거하여 1.0×10^6 cells/ml의 농도로 조정한 후 4°C 에 보관하였다. 이 후 혼합 즉시, 5분, 30분, 1시간 및 24시간 동안 경화된 시편을 96 well flat bottom microplate (Costar, Cambridge, MA, U.S.A.)의 well 바닥에 넣고 $^{51}\text{Chromium}$ 이 표지된 세포 부유액을 $100 \mu\text{l}$ 씩 분주하였다. 세포의 최대 $^{51}\text{Chromium}$ 방출량 (Total Release)은 시편대신 1% Triton X-100 $100 \mu\text{l}$ 와 세포부유액 $100 \mu\text{l}$ 를, 자연방출량 (Spontaneous Release)은 세포배양액 $100 \mu\text{l}$ 와 세포부유액 $100 \mu\text{l}$ 를 혼합하여 측정하였다. 이후 plate를 37°C , 5% CO_2 배양기에서 4시간 동안 배양한 다음 배양상층액을 $100 \mu\text{l}$ 씩 취하여 배양액내에 유리된 $^{51}\text{Chromium}$ 의 방사활성을 gamma counter (Beckman 5500)에서 Count Per Minute (CPM)로 측정하여 다음식에 의하여 % of lysis를 구하였다.

$$\% \text{ of lysis} = \frac{\text{ER} - \text{SR}}{\text{TR} - \text{SR}} \times 100$$

TR : Total Release

SR : Spontaneous Release

ER : Experiment Release

5) 생존 세포수 산정 및 생존률 검사

치수 섬유아세포를 6 well plate (Costar, Cambridge, MA, U.S.A.)의 well당 1×10^5 의 치수 섬유아세포를 넣고 37°C , 5% CO_2 배양기에서 24시간 배양하였다. 24시간 후 배양액을 제거하고 새롭게 제조한 배지 (10% FBS-90% DMEM)를 Well당 2ml씩 첨가하였다. 이어 이들 각 Well에 Millicell-CM (직경

30mm, Millipore Co., Bedford, MA 01730, U.S.A.)을 놓고 그 위에 혼합 후 즉시 제작한 직경 7mm, 높이 2mm의 4종류의 시편을 올려 놓았다. 이 후 37°C , 5% CO_2 배양기에서 매 2일간격으로 배양액을 교체하면서 2일, 4일 및 6일간 각각 배양하였으며 각 배양시간이 끝나면 Millicell-CM을 제거하고 PBS용액으로 세포를 세척한 다음 0.05% Trypsin-0.01% EDTA용액으로 처리하여 날개의 세포로 유리시킨 후 총 세포수, 생존 세포수 및 죽은 세포수를 0.4% Trypan-blue dye exclusion 방법으로 측정하였다.

6) ^{14}C -leucine 결합률 검사

Briseño와 Willershausen의 방법³³⁾을 변형시켜 세포에 대한 leucine의 결합률을 측정하였다. 즉 6 well plate의 Well당 5.0×10^4 의 치수 섬유아세포를 넣고 48시간 배양하였다. 48시간 배양 후 배양액을 각 well당 2ml씩 새롭게 제조한 배양액으로 교체하고 그 위에 Millicell-CM (Millipore Co., 직경 30mm)을 놓고 Millicell-CM위에 혼합 후 즉시 제작한 각각의 시편들을 올려놓고 37°C , 5% CO_2 배양기에서 매 2일 간격으로 배양액을 교체하면서 2일, 4일 및 6일간 배양하였다. 각 배양시간이 경과하면 Millicell-CM을 제거하고 세포를 PBS 용액으로 세척한 다음 1ml의 10% FBS-DMEM 배양액을 각 Well에 분주하고 각 Well당 $0.2 \mu\text{Ci}$ 의 ^{14}C -leucine (Amersham life Sci, Buckinghamshir, England, CFB 67, $50 \mu\text{Ci}$, 1.85MBq)을 첨가하여 2시간 동안 37°C , 5% CO_2 배양기에서 배양하였다. 배양이 끝나면 배양액을 제거하고 PBS용액으로 세포를 세척한 다음 0.05% Trypsin-0.01% EDTA용액으로 치수 섬유아세포를 수집하였다. 수집된 세포는 7.5%의 Trichloroacetic acid로 2회 세척하고 0.2ml의 PBS에 재 부유한 후 5ml의 Cocktail solution (Lumagel safe, Lumae LSC, B.V., Belgium)이 들어있는 Counting vial에 넣고 잘 혼합시킨 후 4°C 냉장고에서 24시간 보관한 다음 β -scintillation counter (Beekmann LS 9000, U.S.A.)에서 그 방사활성을

Count Per Minute (CPM)로 나타내었다.

III. 실험성적

본 실험의 결과는 다음과 같다.

1. 수소이온농도(pH) 측정

4종류 시편의 수소이온농도를 측정한 결과 시간이 경과함에 따라 전반적으로 수소이온농도는 거의 중성에 이르렀고, 1시간 후에는 Fuji lining LC가 가장 낮은 수소이온농도를 나타냈으며 시간이 경과하여도 다른 시편에 비하여 낮은 수소이온농도를 유지하였다 (Table 2).

Table 2. Measurement of pH Variation

Time Material	1hr	2hrs	4hrs	24hrs	48hrs
GC lining cement	5.16	5.38	5.57	6.24	6.42
Ketac-bond	5.12	5.30	5.39	5.92	6.32
Vitrebond	5.63	5.78	5.85	6.09	6.36
Fuji lining LC	4.74	4.94	5.08	5.68	6.03

2. SDH에 의한 세포독성 검사

Millipore filter를 이용한 SDH활성도를 SDH염색법에 의해 평가한 결과 혼합 5분, 30분, 1시간 및 24시간 동안 경화된 시편을 24시간 동안 배양한 실험에서는 혼합 즉시 실

험에 임한 경우 GC lining cement은 28.50mm, Vitrebond는 22.00mm가 염색이 안되어 SDH의 활성도가 낮았고, Ketac-bond와 Fuji lining LC는 10.25mm와 11.00mm가 염색이 안되어 SDH의 활성도가 높게 나타났다. 화학중합형인 GC lining cement와 Ketac-bond는 5분 동안 경화된 시편에서 각각 29.50mm와 10.75mm로 혼합 즉시보다 염색안된 부위가 증가하여 Duncan의 다중 범위 검정법(Duncan's multiple range test)에서 통계학적으로 유의성있게 나타났으며($p < 0.05$) 시간이 경과되면 염색안된 부위가 감소하는 추세를 보였고, 광중합형인 Vitrebond와 Fuji lining LC는 경화된 시간에 관계없이 거의 일정한 염색도를 나타냈다(Table 3, Fig. 1, 2).

혼합 즉시 사용한 시편을 배양시간에 따른 실험에서는 GC lining cement, Vitrebond 및 Fuji lining LC는 배양시간이 증가함에 따라 염색안된 부위의 증가를 보였으며($p < 0.05$), Fuji lining LC는 2시간과 4시간 배양에서 염색안된 부위가 없는 것으로 나타났고 48시간 배양에서는 GC lining cement가 35.12mm, Vitrebond는 millipore filter전체가 염색이 안된 47.00mm로 나타났다(Table 4, Fig. 3, 4).

3. Glass-ionomer cement 액과 분말의 SDH에 의한 세포독성 검사

액은 전반적으로 SDH의 활성도가 떨어져 염색안된 부위가 크게 나타나 Ketac-bond가 가장 적은 12.75mm, Vitrebond가 가장 큰 33.

Table 3. Area(mm) of inhibition of SDH staining with increased setting time following 24 hour exposure time

Time Material	0	5 min	30 min	1 hr	24 hrs
GC lining cement	28.50 ± 1.73	29.50 ± 0.57	25.50 ± 1.00	26.50 ± 0.14	18.75 ± 0.95
Ketac-bond	10.25 ± 2.18	10.75 ± 0.49	10.50 ± 1.00	10.25 ± 0.48	10.25 ± 0.48
Vitrebond	22.00 ± 1.41	22.25 ± 1.24	21.75 ± 0.95	22.50 ± 1.12	19.00 ± 2.94
Fuji lining LC	11.00 ± 1.15	10.25 ± 0.48	10.25 ± 0.48	10.25 ± 0.48	10.75 ± 0.96

(Mean ± SD)

Table 4. Area(mm) of inhibition of SDH staining with increased exposure time

Time Material	2 hrs	4 hrs	24 hrs	48 hrs
GC lining cement	11.75 ± 0.49	15.25 ± 0.49	29.25 ± 1.49	35.12 ± 2.12
Ketac-bond	9.56 ± 0.57	11.25 ± 0.95	11.75 ± 1.70	13.46 ± 1.67
Vitrebond	12.25 ± 1.25	13.75 ± 0.49	28.24 ± 2.16	47.00 ± 0.50
Fuji lining LC	0	0	10.00 ± 0.81	12.50 ± 0.70

(Mean ± SD)

Table 5. Area(mm) of inhibition of SDH staining with the powder and liquid components of glass-ionomer cement

Component Material	Liquid only	Powder only
GC lining cement	18.50 ± 2.30	10.75 ± 0.49
Ketac-bond	12.75 ± 0.49	8.75 ± 1.49
Vitrebond	33.25 ± 0.48	9.50 ± 1.29
Fuji lining LC	25.50 ± 0.57	11.25 ± 0.64

(Mean ± SD)

25mm였고 분말은 액에 비해 염색안된 부위가 적게 나타났다(p<0.05)(Table 5).

4. ⁵¹Chromium 방출량 검사

각각의 재료를 혼합 후 즉시, 5분, 30분, 1시간 및 24시간 동안 경화된 시편을 4시간 동안 배양한 후 죽은 세포에서 나온 ⁵¹Chromium의 방출량을 % of lysis로 나타낸 결과 혼합 후 즉시 실험한 시편에서는 Fuji lining LC가 35.13%로 가장 높은 용해도를 나타냈으며 GC lining cement가 0.77%로 가장 낮은 용해도를 나타냈다. GC lining cement는 30분과 1시간 동안 경화된 시편에서는 세포의 용해가 일어나지 않았으며 Vitrebond는 혼합하여 경과된 시간이 긴 시편일수록 용해도가 감소하였으나 (p<0.05), Fuji lining LC는 1시간 경과된 시편의에는 시간이 경과된 시편일수록 세포 용해도가 높게 나타났다(Table 6).

Table 6. Results of ⁵¹Cr-release from fibroblasts following setting time

Time Material	0	5min	30min	1hr	24hrs
GC lining cement	0.77	0.47	0.00	0.00	0.30
Ketac-bond	8.40	5.13	0.55	1.02	0.30
Vitrebond	10.88	10.35	9.15	8.70	2.09
Fuji lining LC	35.13	39.48	41.01	36.79	57.70

(% of lysis)

5. 생존 세포수 산정 및 생존률 검사

대조군의 경우 2일에 3.90×10^5 cells/Well, 4일에 7.10×10^5 cells/Well, 6일에 9.10×10^5 cells/well로 시간이 경과함에 따라 생존 세포수는 증가하였으나, GC lining cement는 2일에 0.85×10^5 cells/well, 4일에 0.05×10^5 cells/well로 생존 세포수가 감소하여 6일째에는 생존 세포를 관찰할 수 없었다. Ketac-bond의 경우 2일에는 3.45×10^5 cells/well로 대조군보다 약간 감소되었으며 4일에는 약간 증식되었고, 6일에는 현저히 증식하여 8.30×10^5 cells/well의 생존 세포수를 나타냈으나 대조군에는 미치지 못하였다. Vitrebond는 2일에서부터 생존세포가 관찰되지 않았으며 Fuji lining LC는 2일에 생존 세포수가 0.05×10^5 cells/well로 대조군에 비해 현저히 감소하였으며 4일과 6일에서는 생존세포가 관찰되지 않았다(table 7, Fig. 5-9).

세포 생존률 검사에서는 Ketac-bond는 2일에 비하여 4일에서 약간 감소하였다가 6일에

Table 7. Results of viable cell count following exposure time

Material \ Time	2 days	4 days	6 days
Control	3.90 ± 0.20	7.10 ± 0.56	9.10 ± 0.14
GC lining cement	0.85 ± 0.07	0.05 ± 0.00	0.00 ± 0.00
Ketac-bond	3.45 ± 0.20	4.65 ± 0.49	8.30 ± 0.00
Vitrebond	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
Fuji lining LC	0.05 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00

(x 10⁵ cells/well, Mean ± SD)

Table 8. Results of cell viability test (%)

Material \ Time	2 days	4 days	6 days
Control	87.65 ± 7.70	83.95 ± 1.76	96.25 ± 0.78
GC lining cement	45.55 ± 0.77	13.35 ± 1.20	0.00 ± 0.00
Ketac-bond	84.15 ± 0.63	81.53 ± 0.39	95.95 ± 0.77
Vitrebond	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
Fuji lining LC	13.60 ± 0.84	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00

(Mean ± SD)

Table 9. ¹⁴C-leucine incorporation rate of fibroblast following exposure time

Material \ Time	2 days	4 days	6 days
Control	3645 ± 154	4779 ± 203	5911 ± 644
GC lining cement	285 ± 3.34	96.5 ± 7.84	34.5 ± 6.36
Ketac-bond	3595 ± 82.7	4247 ± 355	5706 ± 421
Vitrebond	48.5 ± 0.70	37.5 ± 7.77	34.5 ± 3.53
Fuji lining LC	57.0 ± 0.0	37.0 ± 4.24	27.0 ± 8.48

(Mean ± SD), CPM (Count Per Minute)

증가하여 대조군과 비슷한 양상을 나타냈고, GC lining cement는 4일에 현저히 감소하였다가 6일에는 생존률을 나타내지 않았으며 Fuji lining LC는 2일에서만 미약한 세포 생존률을 나타냈다(Table 8).

성을 측정된 결과 Ketac-bond는 대조군과 유사하게 시간이 경과함에 따라 증가되었고, GC lining cement, Vitrebond 및 Fuji lining LC는 감소되었다(Table 9).

IV. 총괄 및 고안

6. ¹⁴C-leucine 결합률 검사

¹⁴C-leucine 결합률을 이용하여 단백질 합

치과용 수복재료의 생물학적 적합성을 검사하는 방법에는 생체내 및 생체의 실험이

있다^{34,36)}. 사람 및 실험동물의 치아에 와동을 형성하여 재료를 충전하고 일정시간 후에 치수에 나타난 조직병리학적 변화를 관찰하는 생체내 실험은 와동의 깊이와 와동 형성 방법, 잔존 상아질의 두께, 오염층의 존재 및 변연누출에 의한 영향 등을 배제할 수 없으며 결과에 대한 평가기준이 주관적이며 기구조작이나 감염 및 개체의 염증에 대한 반응의 차이 등으로 인해 재료 자체만의 독성을 평가하는데에는 어려움이 있다.^{37,38)} 이에 비하여 생체의 실험은 세포배양법을 이용한 세포독성 검사^{39,40)}가 널리 사용되어 왔으며 이는 실험 조작이 용이하고 유전성 요인을 배제할 수 있으며 또한 생물학적 반응이 빠르고, 실험에 이용될 세포군이 정확하게 분별되며 배양액도 화학적으로 규정되어 있어 세포 환경을 정확하게 재현할 수 있으며 세포독성의 양적인 평가를 할 수 있다.

생체의 실험에서 불용성의 치과재료에 대한 독성검사는 많은 문제점이 대두되고 있으나^{50,51)} 배양된 세포에 시편을 접촉시키는 방법에는 경화된 시편을 직접 배양액에 넣거나 시편을 가능한 한 세포에 근접시키거나 시편의 표면에 세포를 부착시켜 관찰하였으나 이장재의 경우 잔존 상아질에 의해 치수와 직접 접촉하지 않으므로 잔존 상아질의 대용으로 millipore filter method⁴⁹⁾나 agar overlay method^{52,53)}가 개발되었으며 Browne과 Tyas⁵¹⁾는 다시 상아질 절편이나 상아질 분말로 대체하는 model cavity method를 소개하였다.

치과용 재료는 혼합 후 짧은 시간내에 유해성이 크기때문에 생체의 방법으로 독성을 평가하는 것이 바람직하며 세포에 대한 초기의 독성 영향은 lysosome이나 사립체막의 투과성 변화이므로 organelles를 지닌 효소를 염색함으로써 평가할 수 있고 이런 투과성 변화는 세포의 형태적 변화보다 먼저 나타나 독성검사에 민감한 방법이라 할 수 있다. 본 연구에서는 millipore filter를 이용하여 사립체에 있는 SDH의 활성도를 배양시간에 따른 변화와 배양시간을 24시간으로 정한 다음

혼합 후 경화된 시간에 따른 변화를 관찰하였으며 또한 glass-ionomer cement액과 분말의 독성을 각각 따로 측정하였고, 치수 섬유아세포에 방사선동위원소인 ⁵¹Chromium을 표시시켜 세포막의 투과성 변화에 따른 세포독성을 평가하였으며, 시간 경과에 따른 세포독성을 관찰하기 위하여 2일, 4일 및 6일간 glass-ionomer cement를 적용시켜 생존 세포수 산정 및 생존률을 관찰하고, 세포의 기본대사에 관여하는 단백질 합성 정도를 ¹⁴C-leucine의 결합물로 평가하였으며 각 세포독성 검사방법간의 결과를 비교 분석하였다.

본 실험에 사용한 재료중 Ketac-bond는 polyacrylic acid대신에 분말로된 polymaleic acid가 분말성분에 첨가되고 tartaric acid의 용액과 혼합하는 재료로서 polyacrylic acid를 사용하는 재료에 비하여 초기 pH가 높아 치수에 자극이 적으며, 광중합형 glass-ionomer cement의 분말은 광반응하는 fluoro-alumino-silicate glass이며 액은 광반응하는 중합체로서 2-hydroxyl ethylmethacrylate (HEMA)와 수분, 광중합개시제 등으로 구성되어 있으며 경화초기에 수분에 덜 민감하고 조작이 용이하며 30초의 광조사로 경화가 일어난다는 장점을 가졌다.

Crisp등⁵⁴⁾의 glass-ionomer cement에서 불소 유리에 관한 연구에 의하면 일반적으로 구성성분의 유출은 분말의 비율이 증가할수록 감소한다고 발표하였으며, Tobias등⁶⁾은 생체내 실험에서 ASPA의 분말과 액의 비율이 1.2 : 1 보다 3:1에서 치수반응이 적게 나타남을 관찰하였다. millipore filter를 이용한 SDH의 활성도를 측정한 실험에서 Ketac-bond는 세포독성이 적게 나타났는데 이는 다른 3종류의 재료에 비하여 분말과 액의 비율이 3.4 : 1로 상대적으로 크기때문에 독성물질의 유출이 감소된데 기인하는 것으로 사료된다. 혼합하여 경화된 시간에 따른 시편의 SDH염색법에서 화학중합형인 GC lining cement, Ketac-bond는 혼합 즉시 사용한 시편에서보다 5분 동안 경화된 시편에서 세포독성이 약간 증가하였는데 이는 경화시간이 두재료가 4분

으로서 경화될 때까지는 세포독성이 증가한다는 Kawahara⁷⁾의 보고와 일치하며 경화된 시간이 5분 이후의 시편에서는 시간이 경과함에 따라 독성이 감소하는 추세를 나타내었으며 특히 GC lining cement는 24시간 동안 경화된 시편에서 독성이 현저히 감소하였는데 Dahl과 Tronstad²⁵⁾의 보고에 의하면 ASPA 혼합 후 즉시 적용시켰을 때 4시간과 24시간에서의 세포수 측정에서 중등도의 독성을 나타내었으나 24시간 후에는 현저히 독성이 감소하여 화학중합형 glass-ionomer cement가 완전히 경화하는 데는 24시간이 걸리며 경화 후에는 세포독성이 감소하는 것으로 나타났다. 이에 비하여 광중합형인 Vitrebond와 Fuji lining LC는 경화된 시간에 관계없이 세포독성이 거의 일정하게 나타났다.

독성의 영향을 받은 세포가 회복되는지를 알기 위하여 혼합 즉시 사용한 시편을 배양 시간 2시간, 4시간, 1일 및 2일의 실험에서 4 종류의 시편이 배양시간이 증가함에 따라 세포독성이 감소되지 않아 시간이 경과함에 따라 독성의 영향을 받은 세포가 회복되지 못함을 나타냈다. 광중합형인 Fuji lining LC는 2시간과 4시간의 배양시간에서 세포독성이 나타나지 않았는데 이는 Fuji lining LC의 독성성분 농도가 높아 시편하방의 세포가 고정되었기 때문이며 초기 pH가 다른 3 종류의 시편에 비해 현저히 낮은 것도 한 요인으로 기여했을 것으로 사료되고, 24시간의 배양기간에서는 독성물질이 확산되면서 세포의 고정 효과가 서서히 소실되어 세포독성이 나타나기 시작하였는데 이러한 세포의 고정 효과는 Meryon²⁷⁾의 세포독성 검사에서도 보고된 바 있다. 이에 비하여 같은 광중합형인 Vitrebond는 독성성분의 농도가 낮아 Fuji lining LC와 같은 고정 효과는 없었으나 심한 세포독성을 나타냈는데, 이는 Vitrebond에 HEMA가 첨가되어 중합 후에도 지속적으로 세포독성을 나타내기 때문으로 사료된다. 화학중합형인 Ketac-bond는 배양시간이 증가하여도 세포독성이 증가되지 않아 가장 미약한 세포독성을 나타내는 재료로 판정되었다.

Glass-ionomer cement의 분말과 액을 각기 따로 독성 검사를 한 실험에서 분말은 거의 세포독성을 나타내지 않은 반면 액은 심한 독성을 나타내었는데, 분말은 SiO₂(석영), Al₂O₃(강옥), CaF₂(형석) 및 Na₂AlF₆(빙정석) 등으로 구성되어 있으며 혼합하면 분말의 금속이온인 Al⁺³, Ca⁺², Na⁺ 등이 유리되는데 이 이온들은 살아있는 세포나 조직에 무자극 또는 무독성이며, 분말의 대부분을 차지하는 SiO₂ 역시 독성이 없는 것으로 Kawahara⁷⁾와 Haruyuki⁵⁰⁾이 보고하였다. 본 연구에서 glass-ionomer cement의 세포독성은 액의 성분에 의하여 광중합형인 glass-ionomer cement는 HEMA가 첨가되어 화학중합형 glass-ionomer cement의 액보다 심한 세포독성을 나타냈다.

Hume³⁰⁾와 Mount³⁰⁾는 세포배양액에 glass-ionomer cement의 1시간 경화된 시편을 넣고 24시간 배양 후 elute에 의한 세포독성을 관찰한 결과, 본 연구에서와 같이 pH가 낮을수록 세포독성이 크게 나타나 반응하지 않은 산성성분이 세포독성의 주된 요인이라고 밝혔고⁵⁶⁾, pH를 중성으로 조절하였는데도 세포독성이 나타나 산성성분 이외에도 다른 독성 성분이 세포에 영향을 주는 것으로 보고하였으며, 한편 잔존 상아질이 있을 때에는 세포독성이 감소되었는데 그 이유는 첫째 상아질과 glass-ionomer cement 접촉면에서 상아질이 제한된 함수성을 가지기 때문에 glass-ionomer cement의 분해가 저하되기 때문이며, 둘째 glass-ionomer cement의 산성성분이 상아질에 의해 완충되거나 glass-ionomer cement의 독성성분이 상아질과 화학적으로 결합하여 독성이 감소한다고 하였다.

또한 Meryon²⁷⁾은 model cavity method를 이용하여 상아질 분말이 있을 때가 없을 때에 비하여 세포의 생존률이 높았다고 보고하였으며 상아질 분말보다는 상아질 절편이 상아질의 투과성 관점에서는 보다 적절한 재료라고 주장하였는데 이는 Hume⁵⁷⁾도 보고한 바 있으며, Tobias⁶⁾은 생체내 실험에서 산성성분으로 전처리 할 경우 처리하지 않은

경우에 비하여 치수 자극이 더 큰 것으로 나타났다. 이는 와동을 산처리함으로써 상아세관의 오염층이 제거되어 침투성이 증가되기 때문으로 사료된다.

장기간 시편을 적용시켰을 때의 세포독성을 평가하기 위하여 실험 2일, 4일 및 6일의 생존 세포수와 단백질 합성량을 관찰한 바, Ketac-bond는 대조군과 유사한 결과를 보여 본 연구의 SDH염색법과 $^{51}\text{Chromium}$ 방출량 검사 등의 결과와 같이 독성이 적은 것으로 나타났다. Kawahara 등⁷⁾의 실험에서 ASPA와 Fuji ionomer cement는 4일까지의 배양에서 세포성장이 억제되었으나 4일 이후에는 대조군과 같은 세포성장이 나타났음을 보고한 바 있다. 또한 본 연구에서 광중합형 glass-ionomer cement는 2일에서 세포증식과 단백질 합성을 거의 이루지 못하였는데 이는 2ml의 세포배양액에서는 광중합 glass-ionomer cement의 독성농도가 높아 세포가 고정된 결과이며 세포배양액의 용적을 크게 하였다면 보다 양호한 반응이 나타났을 것으로 사료되며, 세포배양액의 용적과 시편의 표면적간의 비율이 달라지면 독성효과는 상이하게 나타난다는 보고^{42,58)}가 이를 뒷받침해 주고 있다.

$^{51}\text{Chromium}$ 방출량 검사에서 전반적으로 광중합형 glass-ionomer cement가 화학중합형 glass-ionomer cement보다 세포독성이 크게 나타나 본 연구의 세포수 산정 및 단백질 합성량의 실험방법과 일치된 소견을 보였으나, Fuji lining LC는 SDH염색법에 의한 실험에서는 비교적 미약한 독성을 나타냈으나 $^{51}\text{Chromium}$ 방출량 검사, 생존 세포수 및 단백질 합성량 검사에서는 독성이 큰 것으로 나타나 실험방법에 따라 현저한 차이를 나타낸 결과에 대하여 Meryon 등²⁹⁾, Hensten-Petersen과 Helgeland⁴²⁾ 및 Browne과 Tyas⁵¹⁾도 생물학적 적합성 검사에서 검사방법에 따라 각기 다른 결과를 보고하여 생체의 실험결과를 무분별하게 임상에 적용해서는 안된다고 경고하였다.

이와 같이 다양한 생체의 실험방법간의

차이점이 완전히 규명되지 않는 한 본 생체의 실험의 결과를 임상에 적용하였을 때는 다른 부작용이 나타날 수 있으므로 치수에 대한 잔존 상아질의 방어효과를 효과적으로 나타낼 수 있는 생체의 실험방법이 개발되어 생체내 실험의 결과와 상호연관성이 이루어져야 할 것이다.

V. 결 론

임상에서 사용되는 이장재용 glass-ionomer cement(화학중합형 GC lining cement, Ketac-bond와 광중합형 Vitrebond, Fuji lining LC)의 치수 섬유아세포에 대한 독성을 평가하기 위하여 수소이온농도 측정, 세포배양법에 의한 succinate dehydrogenase(SDH)의 활성도 검사, $^{51}\text{Chromium}$ 방출량 검사를 하였고, 또한 glass-ionomer cement를 2일, 4일 및 6일간 적용시켜 생존 세포수 산정 및 ^{14}C -leucine 결합률을 측정하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 수소이온농도 측정에서 시간이 경과함에 따라 전반적으로 중성에 이르렀고 Fuji lining LC가 가장 낮게 나타났다.

2. 경화시간에 따라 GC lining cement와 Vitrebond는 Ketac-bond와 Fuji lining LC에 비하여 SDH활성도가 전반적으로 낮게 나타났으며 GC lining cement와 Ketac-bond는 혼합 5분 후 감소되었으나 시간이 경과함에 따라 증가되었다.

3. 배양시간에 따른 SDH활성도는 Vitrebond, GC lining cement 및 Fuji lining LC는 시간이 경과함에 따라 낮아졌으나, Ketac-bond의 경우는 일정하게 나타났다.

4. 분말과 액의 SDH활성도 검사에서 액은 분말에 비하여 낮게 나타났다.

5. $^{51}\text{Chromium}$ 방출량 검사에서 Fuji lining LC가 가장 많은 방출량을 나타냈고 Vitrebond, Ketac-bond, GC lining cement의 순으로 낮게 나타났다.

6. 생존 세포수 산정에서 시간이 경과함에 따라 Ketac-bond는 생존 세포수가 증가하는 양상을 나타냈으나 GC lining cement는 감소

되었고, Fuji lining LC는 2일에서만 관찰되었으며 Vitrebond에서는 관찰되지 않았다.

7. ¹⁴C-leucine결합률 검사에서 GC lining cement, Vitrebond 및 Fuji lining LC는 시간이 경과함에 따라 세포의 단백질 합성 능력이 감소되었으나 Ketac-bond는 대조군과 유사한 정도의 단백질 합성 능력을 나타냈다.

REFERENCES

1. Wilson, A.D. and Kent, B.E. : A new translucent cement for dentistry. *Brit.Dent. J.*, 132 : 133-135, 1972.
2. Forsten, L. : Fluoride release from a glass ionomer cement. *Scan.J.Dent.Res.*, 85 : 503-504, 1977.
3. Swartz, M.L., Phillips, R.W. and Clark, H.E. : Long-term F release from glass-ionomer cements. *J.Dent.Res.*, 63 : 158-160, 1984.
4. Norman, R.D., et al. : Additional studies on fluoride uptake by enamel from certain dental materials. *J.Dent.Res.*, 40 : 529-537, 1961.
5. Status report on the glass ionomer cement : Council on dental materials and devices. *J.Am. Dent.Assoc.*, 99 : 221-226, 1979.
6. Tobias, R.S., Browne, R.M., Plant, C.G. and Ingram, D.V. : Pulpal response to a glass ionomer cement. *Brit.Dent.J.*, 144 : 345-350, 1978.
7. Kawahara, H., Imanishi, Y. and Oshima, H. : Biological evaluation on glass ionomer cement. *J. Dent.Res.*, 58 : 1080-1086, 1979.
8. Pameijer, C.H., Segal, E. and Richardson, J. : Pulpal responses to a glass ionomer cement in primates. *J.Prosthet.Dent.*, 46 : 36-40, 1981.
9. Powis, D.R., et al. : Improved adhesion of a glass ionomer cement to dentin and enamel. *J.Dent. Res.*, 61 : 1416-1422, 1982.
10. Hotz, P., McLean, J.W., Sced, I. and Wilson, A.D. : The bonding of glass ionomer cement to metal and tooth substrates. *Brit.Dent.J.*, 142 : 41-47, 1977.
11. Maldonado, A., Swartz, M.L. and Phillips, R.W. : An in vitro study of certain properties of a glass ionomer cement. *J.Am.Dent.Assoc.*, 96 : 785-791, 1978.
12. McLean, J.W. and Wilson, A.D. : The clinical development of a glass ionomer cement II. Some clinical applications. *Aust.Dent.J.*, 22 : 120-127, 1977.
13. Welsh, E.L. and Hembree, J.H. : Microleakage at the gingival wall with four class V anterior restorative materials. *J.Prosthet.Dent.*, 54 : 370-372, 1985.
14. Hembree, J.H. and Andrews, J.T. : Microleakage of several class V anterior restorative materials : a laboratory study. *J.Am.Dent.Assoc.*, 97 : 179-183, 1978.
15. Sneed, W.D., et al. : Shear bond strength of a composite resin to an etched glass ionomer. *Dent. Mat.*, 1 : 127-128, 1985.
16. Hinoura, K., et al. : Tensile bond strength between glass ionomer cements and composite resins. *J.Am.Dent.Assoc.*, 114 : 167-172, 1987.
17. Causton, V., et al. : Bonding class II composite to etched glass ionomer cement. *Brit.Dent.J.*, 163 : 321-324, 1980.
18. Cooper, I.R. : The Response of the human dental pulp to glass ionomer cements. *Int.Endodon.*, 13 : 76-88, 1980.
19. Walls, A.W.G. : Glass polyalkenoate (glass ionomer) cements : a review. *J.Dent.*, 14 : 231-246, 1986.
20. Paterson, R.C. and Watts, A. : The Response of the rat molar pulp to glass ionomer cement. *Brit. Dent.J.*, 151 : 228-230, 1981.
21. Plant, C.G., Browne, R.M., Knibbs, P.J., Britton, A.S. and Sorahan, T. : Pupal effects of glass ionomer cements. *Int.Endodon.*, 17 : 51-59, 1984.
22. Mclean, J.W. : Alternatives to amalgam alloys. *Brit.Dent.J.*, 157 : 432-433, 1984.
23. Klötzer, W.T. : Pulp reactions to a glass ionomer cement. *J.Dent.Res.*, 54 : 678 (Abst.No.75), 1977.
24. Ücok, M. : Biological evaluation of glass ionomer cements. *Int.Endodon.*, 19 : 285-297, 1986.

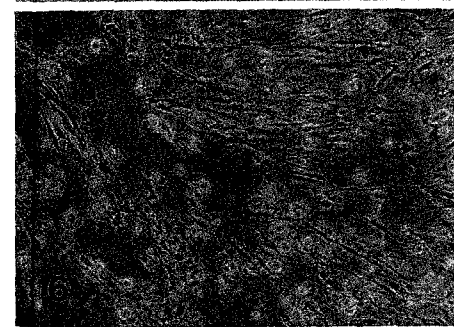
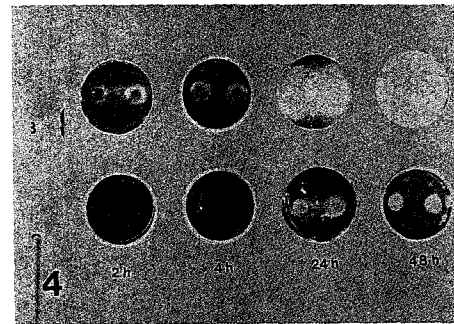
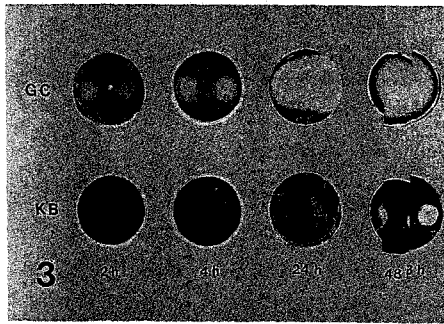
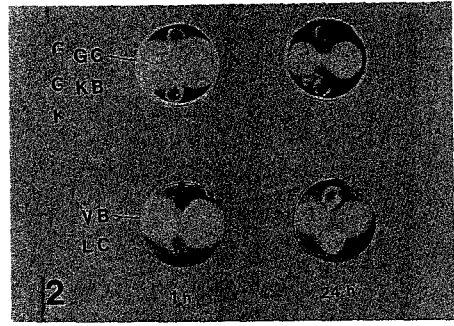
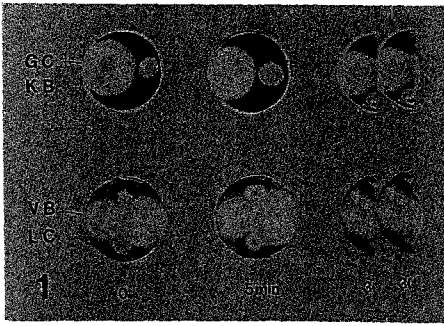
25. Dahl, B.L. and Tronstad, L. : Biological tests of an experimental glass ionomer (Silicopolyacrylate) cement. *J.Oral Rehabil.*, 3 : 19-24, 1976.
26. Hanks, C.T., Anderson, M. and Craig, R.G. : Cytotoxic effects of dental cements in two cell culture systems. *J.Oral Patho.*, 10 : 101-112, 1981.
27. Meryon, S.D., Stephens, P.G. and Browne, R.M. : Comparison of the in vitro cytotoxicity of two glass ionomer cements. *J.Dent.Res.*, 62 : 769-773, 1983.
28. Müller, J., Hörz, W., Bruckner, G. and Kraft, E. : An experimental study on biocompatibility of lining cements based on glass ionomer as compared with calcium hydroxide. *Dent.Mat.*, 6 : 35-40, 1990.
29. Paterson, R.C. and Watts, A. : Caries, bacteria, the pulp and plastic restorations. *Brit.Dent.J.*, 151 : 54-58, 1981.
30. Hume, W.R. and Mount, G.J. : In vitro studies on the potential for pulpal cytotoxicity of glass ionomer cements. *J.Dent.Res.*, 67 : 915-918, 1988.
31. Mclean, J.W., Prosser, H.J. and Wilson, A.D. : The use of glass ionomer cements in bonding composite resins to dentine. *Brit.Dent.J.*, 158 : 410-414, 1985.
32. Spångberg, L.S.W. and Al-Nazhan, S.A. : The radiochromium release method for evaluation of cytotoxicity in vitro. *Int.Endodon.*, 21 : 72-78, 1988.
33. Briseño, B.M. and Willershausen, B. : Root canal sealer cytotoxicity on human gingival fibroblasts. 1.Zinc oxide-eugenol-based sealers. *J.Endodon.*, 16 : 383-386, 1990.
34. Browne, R.M. : The in vitro assessment of the cytotoxicity of dental materials-does it have a role? *Int.Endodon.*, 21 : 50-58, 1988.
35. Beagrie, G.S., Main, J.H.P. and Smith, D.C. : Inflammatory reaction evoked by zinc polyacrylate and zinc eugenate cements. *Brit.Dent.J.*, 132 : 351-357, 1972.
36. Tyas, M.J. : A method for the in vitro toxicity testing of dental restorative materials. *J.Dent.Res.*, 56 : 1285-1290, 1977.
37. Tyas, M.J. and Browne, R.M. : Biological testing of dental restorative materials. *J.Oral Rehabil.*, 4 : 275-290, 1977.
38. Spångberg, L., Rodrigues, H., Langeland, L. and Langeland, K. : Biologic effects of dental materials : 2. Toxicity of anterior tooth restorative materials on Hela cells in vitro. *Oral Surg.*, 36 : 713-724, 1973.
39. Kawahara, H., Nakamura, M., Yamagami, A. and Nakamishi, T. : Cellular response to dental amalgam in vitro. *J.Dent.Res.*, 54 : 394-401, 1975.
40. Spångberg, L. : Kinetic and quantitative evaluation of material cytotoxicity in vitro. *Oral Surg.*, 35 : 389-401, 1973.
41. Helgeland, K. and Leirskar, J. : A further testing of the effect of dental materials on growth and adhesion of animal cells in vitro. *Scan.J.Dent. Res.*, 80 : 206-212, 1972.
42. Hensten-Pettersen, A. and Helgeland, K. : Evaluation of biologic effects of dental materials using four different cell culture techniques. *Scan. J.Dent.Res.*, 85 : 291-296, 1977.
43. Hensten-Pettersen, A. and Helgeland, K. : Sensitivity of different human cell lines in the biologic evaluation of dental resin based restorative materials. *Scan.J.Dent.Res.*, 89 : 102-107, 1981.
44. Das, S. : Effect of certain dental materials on human pulp in tissue culture. *Oral Surg.*, 52 : 76-84, 1981.
45. Tronstad, L., Wennberg, A. and Hasseigren, G. : Screening tests for dental materials. *J.Endodon.*, 4 : 304-307, 1978.
46. Yesilsoy, C. and Feigal, R.J. : Effects of endodontic materials on cell viability across standard pore size filters. *J.Endodon.*, 11 : 401-406, 1985.
47. Tyas, M.J. : An in vitro method for the toxicity testing of dental restorative materials. *J.Dent. Res.*, 56, Abst.No.122, 1977.
48. Wennberg, A. : In vitro assessment of the bioco-

- mpatibility of dental materials-the millipore filter method. *Int.Endodon.*, 21 : 67-71, 1988.
49. Meryon, S.D., Stephens, P.G. and Browne, R.M. : A modification of the millipore method for screening restorative materials. *Int.Endodon.*, 15 : 197-202, 1982.
 50. Tyas, M.J. and Browne, R.M. : Biological testing of dental restorative Materials. *J.Oral Rehabil.*, 4 : 275-290, 1977.
 51. Browne, R.M. and Tyas, M.J. : Biological testing of dental restorative materials in vitro-a review. *J.Oral Rehabil.*, 6 : 365-374, 1979.
 52. Imai, Y., Watanabe, A., Chang, P.I. and Masuhara, E. : Evaluation of the biologic effects of dental materials using a new cell culture technique. *J. Dent.Res.*, 61 : 1024-1027, 1982.
 53. Mohammed, A.R., Mincer, H.H., Younis, O., Dillingham, E. and Siskin, M. : Cytotoxicity evaluation of root canal sealers by the tissue culture agar overlay technique. *Oral Surg.*, 45 : 768-77, 1978.
 54. Crisp, S., Lewis, B.G. and Wilson, A.D. : Glass ionomer cements : Chemistry of erosion. *J.Dent. Res.*, 55 : 1032-1041, 1978.
 55. Haruyuki, K., Yoshitsugu, I. and Hiroshi, O. : Biologic evaluation on glass ionomer cement. *J. Dent.Res.*, 58 : 1080-1086, 1979.
 56. Smith, D.C. and Ruse, N.D. : Acidity of glass ionomer cements during setting and its relation to pulp sensitivity. *J.Am Dent.Assoc.*, 112 : 654-657, 1986.
 57. Hume, W.R. : A new technique for screening chemical toxicity to the pulp from dental restorative materials and procedures. *J.Dent.Res.*, 64 : 1322-1325, 1985.
 58. Mjör, L.A., Hensten-Pettersen, A. and kogedal, O. : Biologic evaluation of filling materials.A comparison of results using cell culture techniques, implantation tests and pulp studies. *Int.Dent.J.*, 97 : 124-129, 1977.

EXPLANATION OF PHOTOGRAPHS

- Fig. 1. Photograph of SDH staining following setting time
- Fig. 2. Photograph of SDH staining following setting time
- Fig. 3. Photograph of SDH staining following exposure time
- Fig. 4. Photograph of SDH staining following exposure time
- Fig. 5. Fibroblast cultured for 2 days in control (x100)
- Fig. 6. Fibroblast cultured for 2 days in GC lining cement (x100)
- Fig. 7. Fibroblast cultured for 2 days in Ketac-bond (x100)
- Fig. 8. Fibroblast cultured for 2 days in Vitrebond (x100)
- Fig. 9. Fibroblast cultured for 2 days in Fuji lining LC (x100)

논문 사진부도



THE CYTOTOXIC EFFECTS OF GLASS-IONOMER CEMENT LINERS ON FIBROBLASTS IN HUMAN PULP

Young - Min Na, D. D. S., M. S. D., Byung - Soon Min, D. D. S., Ph. D.
Ho - Young Choi, D. D. S., M. S. D., Ph. D., Sang - Jin Park, D. D. S., M. S. D., Ph. D.,
Gi - Woon Choi, D. D. S., M. S. D., Ph. D.

Department of Conservative Dentistry, College of Dentistry, Kyung Hee University

The purpose of this study was to evaluate for the cytotoxicity of glass-ionomer cement liners (GC lining cement, Ketac-bond, Vitrebond and Fuji lining LC) on the fibroblasts cultured from human pulp. The fibroblasts were cultured in DMEM-10% FBS medium. The measurement of pH, succinate dehydrogenase (SDH) activity test and ⁵¹Chromium release test were performed. Viable cell count and ¹⁴C-leucine incorporation rate were evaluated following culture time of 2, 4 and 6 days.

The results of this study were as follows :

1. The pH in all cements was to be neutralized as time elapsed, and Fuji lining LC was the lowest pH value among them.
2. SDH activity was more inhibited in GC lining cement and Vitrebond than Ketac-bond and Fuji lining LC with the setting process, and GC lining cement and Ketac-bond were reduced after 5 minute's setting and then elevated as time elapsed.
3. In SDH activity test following exposure time, the activity in Vitrebond, GC lining cement and Fuji lining LC was inhibited with increased exposure time, but it was fairly constant in Ketac-bond.
4. Overall the liquid component was more inhibited than the powder component of glass-ionomer cement in SDH activity test.
5. In ⁵¹Cr-release test, Fuji lining LC was the most released of all the cements tested and followed by : Vitrebond, Ketac-bond, GC lining cement.
6. In viable cell count, the number of cells increased as the culture day proceeded in Ketac-bond, but they decreased in GC lining cement. Fuji lining LC was only observed after 2 days culture and there was not observed the whole culture days in Vitrebond.
7. In ¹⁴C-leucine incorporation rate test, protein synthesis was decreased with the number of culture days in GC lining cement, Vitrebond and Fuji lining LC, but it was followed that of control in Ketac-bond.