

數種 根管消毒劑 및 根管充填材의 細胞毒性에 關한 實驗的 研究

慶熙大學校 大學院 齒醫學科 保存學 專攻

<指導教授 崔 浩 永>

鄭 忠 謨

— 目 次 —

- I. 緒 論
- II. 實驗材料 및 方法
- III. 實驗成績
- IV. 總括 및 考按
- V. 結 論
- 參考文獻
- 英文抄錄
- 寫眞附圖

I. 緒 論

根管治療의 目的은 感染 혹은 外傷 등으로 損傷받은 齒牙를 維持 保存시켜 줌으로써 窮極의 으로는 齒牙 固有의 機能을 恢復시키고져 하는 데 있다. 따라서 보다 合理的인 施術을 하기 爲해서는 根管擴大, 根管洗滌, 根管滅菌 및 根管充填 등이 完璧하게 이루어져야 함은 周知의 事實이다. 이 中 根管의 滅菌은 主로 自然治癒力과 防禦力이 全無한 根管壁象牙質을 對象으로 齒根端周圍組織에 影響을 주는 細菌을 除去하여 根端部의 創傷治癒를 促進시키고 細菌에 依한 局所 및 全身疾患의 發病을 豫防하는 데 意義가 있다. 器械의 根管擴大時 Ingle과 Zeldow²⁶⁾는 滅菌蒸溜水로 感染根管을 洗滌하여 4.6%例에서만 細菌이 培養되지 않았음을 報告한 반면 Stewart⁴⁶⁾는 3% 過酸化水素水와 次亞鹽素酸나트륨溶液을 並用하여 洗滌함으로써 約 76%例에서 陰性培養을 얻었음을 報告하여 實際 chemomechanical preparation만으로도 根管內의 滅菌에 많은 效果를 볼 수 있음을 實驗으로 立證하였으나 아직도 臨床에서 보다 確實한 根管滅菌을 爲하여 根管消毒劑 및 抗生劑를 使用하여 感染根管內의 細菌增殖을 抑制시키고 있다. 現在 臨床에서 根管消毒劑로 使用되고있는 藥物로는 formo-

cresol, camphorated parachlorophenol, beechwood creosote, cresatin, eugenol 등 多數에 이르고 있으며 이 根管消毒劑가 生體組織과 接觸되었을 때 組織細胞 固有의 機能의 變化를 일으키지 않으면서 殺菌效果만을 나타내는 것이 바람직한 것이다. 使用된 根管消毒劑가 細胞活性에 影響이 미쳤을 境遇, 이 藥物의 影響을 받은 組織細胞의 活性이 減少되어 術後 恢復을 遲延시킬뿐만 아니라 境遇에 따라서는 根管治療의 失敗를 招來시킬수 있기 때문에 이 藥物들의 生物學的 特性을 究明하려는 많은 研究가 繼續되고 있다.

Coolidge¹³⁾는 家犬의 生活齒髓를 拔髓하고 根管內에 根管消毒劑를 넣어 齒根端周圍組織의 反應에 對한 實驗結果를 報告하였고 Grossman²¹⁾은 5種의 根管消毒劑를 上肢皮膚에 局所的으로 接觸시켜 皮膚反應의 程度와 藥物除去 後, 治癒의 期間을 觀察 報告한 바 있고, Schilder와 Amsterdam⁴⁰⁾, Stewart와 Gautier⁴⁷⁾는 根管藥劑의 起炎性效果를 研究할 目的으로 家兔의 結膜囊에 數種의 藥物을 넣어 實驗하였다. 또한 Engström과 Spangberg¹⁵⁾는 數種 根管消毒劑의 HeLa cell에 對한 細胞毒性을 研究함에 있어 段階稀釋法을 利用하여 實驗하였고 Straffon과 Han⁴⁸⁾은 formocresol이 hamster의 結締組織細胞에 미치는 反應에 對해서 Proline-H³을 利用한 自記放射法의 研究를하여 觀察 報告하였으며 Harrison과 Madonia²⁴⁾는 parachlorophenol의 毒性을 研究하기 爲하여 家兔의 눈과 皮膚 結締組織을 利用하여 實驗한 바 있다. 그리고 Vander wall等⁵⁵⁾은 diploid human embryonic lung cell에 對한 數種 根管消毒劑의 細胞毒性에 關하여 實驗 報告하였고 Spangberg等⁴⁴⁾은 數種 根管消毒劑의 培地 內의 濃度別에 따른 L cell에 對한 細胞毒性을 實驗하여 報告한 바 있다.

그 外 Thé等⁴⁹⁾은 2種의 實驗 根管消毒劑의 蒸發氣體가 Vero cells에 미치는 細胞毒性에 對하여 觀察 報告

한 과 있었고 Torneck⁵²⁾, Thé와 Maltha^{50,51)}는 polyethylene tube內에 數種의 根管消毒劑를 넣어 Guinea pig의 皮下에 埋植하여 組織反應을 觀察 報告하였으며 Gazi 等¹⁶⁾은 稀釋된 formocresol을 白鼠皮下에 埋植하여 組織에 對한 刺戟性에 對한 報告가 있었다. 또한 根管充填은 治療의 成功與否를 左右하는 根管治療의 最終過程으로 大端히 重要하며 Ingle과 Beveridge⁶⁾은 根管이 不完全 密閉되면 齒根端周圍組織에 分布되어 있는 毛細血管 內의 血液因子 特別히 血清成分이 血管壁는 빠 지나와 根端孔을 通하여 根管內로 浸透해 들어가 貯留되어 이로 因한 分解產物이 齒根端周圍組織에 物理化學的 刺戟原으로 作用하여 根管治療의 豫後가 不良하게 나타난다고 報告하였다. 現在 根管을 完全密閉시키기 爲한 여러가지의 根管充填方法이 紹介되어 있고 여러 種類의 根管充填材가 開發되었다. 根管充填은 固形의 根管充填材와 根管充填用 세멘트를 單獨 혹은 並用하여 行하여 지고 있으나 一般의으로 gutta percha point 나 혹은 silver point와 같은 固形의 根管充填材를 根管充填用 세멘트 및 溶媒劑 等과 함께 使用하여서 根管을 密閉시키고 있다. 特別히 根管充填材는 生體組織과 永久的으로 接觸된 狀態로 存在하여 異物로서 齒根端周圍組織과 相互作用 與否에 따라서 免疫學的으로도 相當히 重要한 意義를 가지고 있기 때문에 지난 數十年 동안 根管充填材의 生物學的 特性을 究明하려는 많은 研究 報告가 있었다. Rappaport 等³⁸⁾은 N₂ permanent와 N₂-medical을 白鼠皮下에 埋植하고, Langeland 等³¹⁾은 N₂를 임승이 齒牙에 根管充填한 結果 甚한 繼續的인 炎症反應이 나타났음을 報告하였고 Keresztesi와 Kellner³⁰⁾는 Guinea pigs의 皮下組織 內에 N₂板을 埋植하였을 때 周圍組織에 甚한 炎症反應이 일어났음을 報告하였으며 Feldman 等¹⁶⁾은 家兔의 下顎骨 內에 純銀球와 N₂를 埋植하여 3個月 後에 實驗藥劑 埋植部位의 病理組織學的 變化를 比較 觀察한 結果 N₂가 純銀球보다 더 甚한 反應이 나타났음을 報告하였으며 Snyder 等⁴¹⁾은 家犬의 根端部 病巢가 있는 感染根管에 N₂ medical을 貼布하고 N₂로 根管充填하였을 때와 paramonochlorophenol로 貼布를 하고 silver cone으로 根管充填하였을 때의 齒根端周圍組織의 病理組織學的 所見을 比較 觀察하여 報告하였다.

이 외에 放射性 同位元素를 標의細胞에 標示하여 根管充填材의 細胞毒성을 評價한 研究로는 Spangberg와 Langeland⁴⁶⁾, Antrim⁴⁰⁾ 等의 實驗結果가 報告된 바 있으며 Guess 等²²⁾과 Mohammad 等³²⁾은 寒天平板法을 利用하여 根管充填材의 細胞毒성을 研究하여 觀察 報告하였고 Wennberg⁵⁷⁾는 millipore filter上에 細胞培養을

하여 根管充填材의 細胞毒성에 關하여 觀察 報告하였다. 그러나 同種의 根管充填材라 할지라도 實驗動物, 實驗方法 및 實驗評價基準 等에 따라서 이 藥劑에 對한 組織反應 所見 및 細胞毒성은 多樣한 變化를 나타내게 된다. 즉 Friend와 Browne¹⁷⁾은 家兔에 AH26을 埋植實驗한 結果 初期에 組織에 甚한 炎症反應이 일어났다고 報告하였으나 Guttuso²³⁾는 白鼠에 AH26을 埋植實驗하여 輕度乃至 中等度の 炎症反應이 나타났다고 報告하였고 Kawahara 等²⁹⁾은 組織培養을 利用한 體外實驗에서 AH26이 細胞障害를 일으키지 않았다고 報告하였으나 Spangberg⁴²⁾는 AH26이 HeLa cell에 毒성을 미쳤다고 報告하였다.

이와같이 生體組織에 對한 藥劑의 刺戟原성을 正確히 把握한다는 것은 大端히 難解한 것이며 또한 實驗成績에 여러가지의 變異要素가 作用될 수 있는 것이다. 따라서 最近에 藥劑의 生體組織에 對한 生物學的 反應을 評價하는 데 있어 보다 客觀性을 賦與하기 爲하여 實驗條件이나 評價基準를 標準化시키기 爲한 꾸준한 研究가 繼續되고 있다. ¹¹⁾ 體外에서 組織細胞 培養을 利用하는 生物學的 實驗方法은 象牙質, 骨, 脈管系統에 對한 試料의 影響에 關해서는 評價할 수 없는 短點을 가지고 있으나³⁴⁾ 細胞反應을 觀察하는데는 適切히 應用될 수가 있기 때문에 本 實驗에서도 數種 根管消毒劑 및 根管充填材의 細胞毒성을 評價하는 데 利用하였다. 現在 臨床에서 使用되는 大部分의 根管消毒劑는 齒根端周圍組織으로 浸透해 들어갈 境遇 齒根端周圍組織에 炎症과 損傷을 惹起시킨다고 報告하였다.⁵⁸⁾ 이러한 理由로 根管消毒劑가 齒根端周圍組織과 直接 接觸되는 것을 避하기 爲하여 根管을 乾燥시킨 다음 綿球에 藥物을 적혀 餘分の 藥物을 짜낸 後 齒髓腔에 局限시키는 藥物附加方法을 勸奨하고 있다.^{7,9)} Ingle와 Beveridge⁷⁾에 依하면 大部分의 根管消毒劑는 氣化性과 낮은 表面張力을 가지고 있기 때문에 根管內에 藥物을 넣지 않아도 全根管을 通하여 잘 擴散될 수 있으며 藥物을 무친 paper point가 根管 內에 挿入되면 滲出物로 因해서 使用된 根管消毒劑가 根端孔 外 齒根端周圍組織內로 浸透될 憂慮가 있다고 警告하였다.

따라서 根管消毒劑 自體를 細胞에 直接 接觸시켜 細胞毒성을 評價하는 것 보다는 이 藥物의 蒸發氣體가 나타내는 細胞毒성을 比較 評價하는 것이 臨床의으로 더 意義가 있을 것으로 思料되어 本 實驗에서 實驗根管消毒劑의 蒸發氣體가 細胞에 미치는 細胞毒性 與否를 組織細胞 培養方法을 利用하여 研究하였으며 根管充填材는 臨床使用條件으로 보아 이 藥材의 細胞毒性 自體 뿐만 아니라 擴散度도 觀察할 수 있는 寒天平板法을 擇하여 實

驗根管充填材의 細胞毒性에 關한 研究를 하였다. 그러나 寒天平板法만으로는 客觀的인 評價에 多少 未洽함을 느껴 最近 細胞障害效果에 對한 感受性이 가장 銳敏한 放射性 同位元素로 標示된 標的細胞, 特히 培養된 各種 cell line을 利用한 實驗方法이 보다 正確한 評價를 할 수 있어 著者는 ^{51}Cr 를 標的細胞(L cell)에 標示하여 實驗根管充填材의 細胞毒性에 對한 實驗을 追加하였고 實驗根管消毒劑의 蒸發氣體에 對한 細胞毒性은 著者가 考案한 試驗管 內에서 組織細胞 培養法을 利用하여 多少의 成績을 얻었기에 이에 報告하는 바이다.

II. 實驗材料 및 方法

1. 實驗材料

1) 細胞株

本 實驗에 使用한 L細胞(CH₃, heart fibroblast cell)는 國立 保健研究院에서 分讓받은 것이다.

2) 實驗培地 및 材料

TC medium 199(Difco Lab., U.S.A.)

Fetal bovine serum (Microbiological associates, U.S.A.)

RPMI 1640(GIBCO Co., U.S.A.)

抗生劑(Penicilline(10000 unit/ml)+Streptomycin (10000mcg/ml), GIBCO Co., U.S.A.)

Tube(Tygon tube Cat. No. R5340—2: $\frac{3}{16}$ in. (I.D.), Cat. No. R5340—1: $\frac{1}{8}$ in. (I.D.), U.S.A.)

Neutral red(The Coleman & Bell Co., U.S.A.)

Agarose(Sigma, U.S.A.)

Hank's balanced salt solution(Difco Lab., U.S.A.)

Trypan blue(KISIDA 化學株式會社, 日本)

^{51}Cr (韓國 原子力研究所 製品)

3) 實驗藥劑

① 根管消毒劑

Formocresol(村上研究所, 日本)

formalin 40% creosote 25%

cresol 25% ethanol 10%

Camphorated phenol(日本齒科製藥株式會社, 日本)

phenol 35% dl-camphor 65%

Eugenol U.S.P. (Sultan chemists, Inc., U.S.A.)

② 根管充填材

Cavitec(Kerr manufacturing Co., U.S.A.)

zinc oxide-eugenol with fillers and modifiers added.

Mynol(Mynol Inc., U.S.A.)

powder; iodoform, bismuth subnitrate, zinc oxide, rosin

liquid; eugenol, creosote, thymol

Canals(昭和藥品化工株式會社, 日本)

powder; zinc oxide(J.P.), rosin, barium sulfate, bismuth subcarbonate

liquid; clove oil, peanut oil

Calvital(ネオ製藥工業株式會社, 日本)

powder; calcium hydroxide, iodoform, sulfathiazol, guanofuracin.

liquid; tetracaine, guanofuracin.

Vitapex(ネオ製藥工業株式會社, 日本)

calcium hydroxide, iodoform

N₂(日本齒科藥品株式會社, 日本)

powder; zinc oxide, azonaphtol sulfonic acid, calcium hydroxide, arylalkyl sulfonic acid, phenylmercuric borate, titanium oxide, trioxymethylene, barium sulfate.

liquid; azonaphtol sulfonic acid, clove oil.

N₂-medical(日本齒科藥品株式會社, 日本)

powder; hydroxydimethyl octadiene, phenylmercuric borate, titanium oxide, trioxymethylene, barium sulfate, calcium hydroxide, zinc oxide.

liquid; hydroxydimethyl octadiene, clove oil.

AH-26(DE TREY FRERES S.A., Switzerland)

liquid(paste); bisphenol diglycidyl ether.

powder; bismuth oxide, silver powder, titanium oxide, hexamethylene tetramine.

Hypo-cal(Ellman dental mfg. Co. Inc., U.S.A.)

calcium hydroxide, U.S.P.

barium sulphate, U.S.P.

hydroxyethyl cellulose

water, U.S.P.

Zinc Oxide & Eugenol(Sultan Chemists Inc., U.S.A.)

2. 實驗方法

本 實驗은 生體 外(in vitro)에서 根管消毒劑의 蒸發氣體와 根管充填材가 L細胞에 미치는 影響을 評價하기 爲하여 다음과 같은 4가지 方法으로 分類하여 實驗하였다.

1) 實驗 1

根管消毒劑의 蒸發氣體가 L細胞에 미치는 影響에 對하여 主로 形態學的인 觀點에서 觀察할 目的으로 TC medium 199에 페니실린(100IU/ml), 스트렙토마이신(100mcg/ml)과 10% fetal bovine serum을 加하고 最終 pH는 7.5 NaHCO₃을 利用하여 7.3으로 調整하여 使用하였다(以下 TC medium 199). 上記 培地에 L細胞

胞를 2.4×10^6 cells/ml가 되도록 浮遊시켜 tissue culture tube(15mm(直徑)×100mm, Kimax, U.S.A.)에 1ml씩 分注한 後 37°C 5% CO_2 孵卵器 內에서 24時間 동안 培養하여 monolayer를 形成시킨 後 顯微鏡을 利用하여 monolayer 形成이 良好한 것을 選擇하였다. 그 後 實驗群은 capillary pipette 內에 根管消毒劑를 各 各 區分해서 0.04~0.05ml씩 刺진 綿球을 Fig. A와 같이 操作하였다. 그리고 37°C 5% CO_2 孵卵器 內에서 24時

間 동안 根管消毒劑의 蒸發氣體를 作用시킨 後 上層 培養液을 capillary pipette으로 除去하고 生理的 食鹽水 로 2回 洗滌한 다음 50% ethylene+50% absolute alcohol로 2時間 동안 固定시켜 Hematoxylin-Eosin으로 重染色하여 根管消毒劑의 影響部位를 顯微鏡 下에서 形態學的으로 觀察하였고, 對照群은 生理的 食鹽水를 使用하였으며 上記 實驗을 3次 以上 反復 確認 施行하였다.

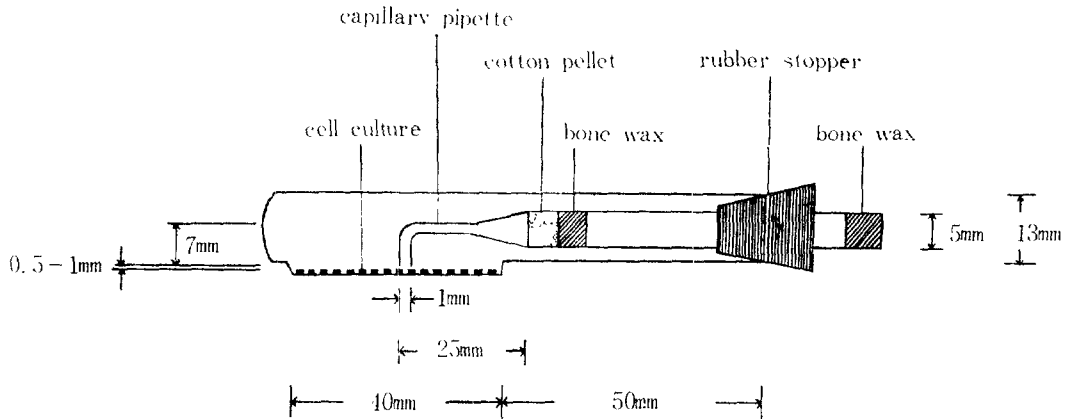


Fig. A. Schematic drawing of tissue culture tube used for study of long-distance cytotoxic effect of several root canal disinfectants.

2) 實驗 2

根管消毒劑의 蒸發氣體가 L細胞의 生活力에 미치는 影響을 定量的으로 測定하기 爲한 實驗으로 5.7×10^6 cells/ml으로 調整된 L細胞를 實驗 1에서와 같이 操作하여 Fig. A와 같이 24時間 동안 作用시킨 後 tissue culture tube 內의 모든 細胞를 收去하여 新鮮한 TC medium 199으로 2回 洗滌한 上層液을 除去하고 0.75 ml 新鮮한 TC medium 199과 0.25ml 0.4% Trypan blue 液에 그 沈澱物을 再 浮遊시켜 總量이 1ml되도록 한 後 hemocytometer를 利用한 通法에 依하여 死細胞와 生細胞를 區分하여 計算하였다. 對照群으로는 生理的 食鹽水를 使用하였으며 한 種類의 根管消毒劑 當 6個의 tissue culture tube를 使用하여 平均成績을 얻었다.

3) 實驗 3

根管充填材가 L細胞에 미치는 影響을 檢討할 目的으로 實驗 1에서와 같이 L細胞의 數를 2.4×10^6 cells/ml가 되도록 하여 tissue culture plate(100mm(直徑), Kimax, Scientific, U.S.A.)에 10ml씩 分注한 後 37°C 5% CO_2 孵卵器 內에서 48時間 동안 培養하여 monolayer를 形成시킨 다음 良好한 것을 選擇하여 上層 培地을 capillary pipette으로 吸入 除去하였다. 다시 新

鮮한 TC medium 199에 1% agarose가 含有되도록 하여 monolayer가 形成된 plate에 5ml씩 分注하여 室溫에서 硬化시켰다. 그 後 0.01% neutral red液으로 agar 表面을 均一하게 塗布시켜 室溫에서 15分동안 染色 되도록 放置한 後 capillary pipette으로 餘分の 染色液을 除去하고 練和直後 Tygon tube($\frac{3}{16}$ in(內徑)×6 mm)에 넣은 根管充填材와, 練和直後 Tygon tube에 넣어 37°C 5% CO_2 孵卵器內에서 4時間 및 24時間 동안 硬化시킨 根管充填材를 3個 實驗群으로 分類하여 上記 準備된 tissue culture plate上에 plate當 4~5個의 各 各 다른 根管充填材를 同時에 一定한 間隔으로 올려 놓았다. 이 때에 모든 根管充填材의 練和方法은 製造會社 指示를 따랐으나 Z.O.E.란은 液粉比率을 1:3으로 하여 練和하였다. 그 後 37°C 5% CO_2 孵卵器 內에서 4時間 동안 經過시킨 後 根管充填材가 들어있는 Tygon tube를 除去하고 肉眼的으로 脫色된 zone을 測定하였을 뿐 아니라 顯微鏡下에서 觀察하였다. 對照群으로는 Tygon tube만을 使用하였다. 上記 實驗은 3個의 實驗片을 一時에 施行하여 平均成績을 얻었다.

4) 實驗 4

根管充填材가 L細胞에 미치는 影響을 定量的으로 測定하기 爲하여 實驗 1, 2 및 3에서 使用한 TC medium

199에 L細胞를 2.4×10^6 cells/ml로 浮遊시켜 tissue culture plate에 10ml씩 分注하여 37°C 5% CO₂ 孵卵器에서 72時間 동안 培養하였다. 上層液을 capillary pipette으로 除去하고 少量의 0.25% trypsin液으로 5~7分 동안 37°C 5% CO₂ 孵卵器內에 넣어 tissue culture plate上에 附着되어 있는 細胞들을 分離한 後, HBSS (Hanks's balanced salt solution)로 2回 洗滌하여 trypsin液을 除去後, TC medium 199, 10ml를 加하여 plastic cap tube에 넣어 保管된 細胞를 1×10^6 cells/ml로 調整하여 1,000 r.p.m.으로 5分 동안 遠心分離하여 TC medium 199을 除去하였으며 10% fetal bovine serum이 含有된 組織培養液 RPMI 1640으로 交換한 後 再 遠心分離해서 上層液을 除去하였다.

그리고 100μci 의 ⁵¹Cr를 加하여 손으로 흔들어 잘 섞은 다음 37°C 5% CO₂ 孵卵器內에서 15分 間隔으로 흔들면서 2時間 동안 培養시킨 後, 다시 RPMI 1640으로 3~4回 洗滌하고 10% fetal bovine serum이 含有된 組織培養液 RPMI 1640에 細胞數를 1×10^6 cells/ml로 再調整시켜, ⁵¹Cr이 標示된 細胞 浮遊液 0.5ml씩을 plastic cap tube에 分注하고 練和直後 Tygon tube($\frac{1}{8}$ in. (內徑)×6mm)에 넣은 根管充填材와 練和直後 Tygon tube에 넣어 37°C 5% CO₂ 孵卵器內에서 4時間 및 24時間 동안 硬化시킨 根管充填材를 3個 實驗群으로 分類하여 上記 準備된 plastic cap tube에 넣어 4時間 동안 37°C 5% CO₂ 孵卵器內에서 作用시킨 後 遠心分離하

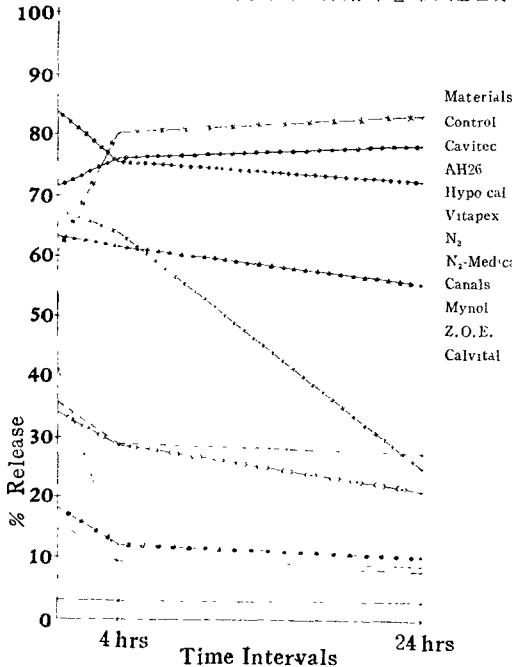


Fig. B. Percent release over specified time intervals, four-hour contact.

여 上層液 100μl를 取해서 γ-counter(Beckman, Gamma 9000, U.S.A.)를 利用하여 ⁵¹Cr이 遊離되는 量을 測定하이 다음과 같은 公式에 依하여 實驗根管充填材가 L細胞에 미치는 影響을 百分率로 計算하였다.¹⁾

$$\text{release \%} = \frac{\text{CPM}(\text{test sample}) - \text{CPM}(\text{spontaneous lysis})}{\text{CPM}(\text{total lysis}) - \text{CPM}(\text{spontaneous lysis})} \times 100$$

上記의 total lysis는 實驗根管充填材 代身, 1N HCl 0.5ml씩 넣어 標示된 L細胞로부터 ⁵¹Cr을 全部 遊離시킨 것이며 spontaneous lysis는 藥劑 및 1N HCl 代身에 細胞培養液 0.5ml씩을 넣은 狀態에서 自然的으로 遊離되는 ⁵¹Cr의 量이다. 對照群으로는 Tygon tube만을 使用하였고 한 種類의 實驗根管充填材 當 6個의 實驗片을 使用하여 上記 實驗을 一時에 施行하였다.

III. 實驗成績

1. 實驗 1

根管消毒劑의 蒸發氣體가 L細胞에 미치는 影響에 對한 光學顯微鏡下에서의 形態學的 所見은 다음과 같다.

formocresol은 蒸發氣體가 排出되는 全部位와 tissue culture tube內에 形成된 monolayer의 全表面에서 많은 細胞가 均等하게 脫落되었으며 細胞의 密集度가 顯著히 減少되었고 그 大部分의 細胞에서 固有의 形態가 變化되었음을 보였다(Fig. 1 參照).

camphorated phenol은 蒸發氣體가 排出된 部位에서 若干의 細胞가 脫落되었을 뿐 그 邊緣部에 分布된 細胞의 密集度는 多少 減少되었으나 그 形態의 變化는 없었다. 그 外의 全部位에서는 對照群에서 보여 준 것과 같이(Fig. 2 參照), 細胞의 密集度와 形態의 變化가 없었다(Fig. 3 參照).

eugenol은 蒸發氣體가 排出되는 部位에서만 顯著的한 細胞의 脫落을 보였으며 그 邊緣部에 있어서는 細胞의 形態가 둥글게 나타났으나 그 外의 部位에서는 對照群에서와 같이(Fig. 2 參照) 細胞의 密集度와 形態의 變化가 없었다(Fig. 4 參照).

2. 實驗 2

根管消毒劑의 蒸發氣體가 L細胞에 미치는 影響을 hemocytometer를 利用하여 算定한 結果 Table 1과 같은 成績을 얻었다.

처음 tissue culture tube內에 浮遊시킨 L細胞의 數 5.7×10^5 cells/ml는 monolayer를 形成시키기 爲한 24時間과 根管消毒劑 및 生理的 食鹽水를 作用시켜 24時間 經過한 總 48時間 後에 formocresol, camphorated phenol, eugenol 및 對照群에서 平均値는 各各 $(10.33 \pm 0.29) \times 10^5$ cells/ml, $(13.70 \pm 0.38) \times 10^5$ cells/ml, $(12.$

Table 1. Effect on L cells of volatile gas of three root canal disinfectants.

Tested mdicaments	Dead cells	Living cells	Total cells
	Mean±S.E.	Mean±S.E.	Mean±S.E.
Control	$(0.62 \pm 0.10) \times 10^5$ cells/ml	$(14.65 \pm 0.33) \times 10^5$ cells/ml	$(15.27 \pm 0.41) \times 10^5$ cells/ml
	3.99±0.57%	96.01±0.57%	100%
Formocresol	$(9.61 \pm 0.25) \times 10^5$ cells/ml	$(0.77 \pm 0.06) \times 10^5$ cells/ml	$(10.38 \pm 0.29) \times 10^5$ cells/ml
	92.60±0.52%	7.40±0.52%	100%
Camphorated phenol	$(0.87 \pm 0.08) \times 10^5$ cells/ml	$(12.83 \pm 0.35) \times 10^5$ cells/ml	$(13.70 \pm 0.38) \times 10^5$ cells/ml
	6.34±0.55%	93.66±0.55%	100%
Eugenol	$(1.98 \pm 0.14) \times 10^5$ cells/ml	$(10.88 \pm 0.25) \times 10^5$ cells/ml	$(12.86 \pm 0.36) \times 10^5$ cells/ml
	15.34±0.75%	84.66±0.75%	100%

*The number of L cells that was dispensed into the tissue culture tube was 5.7×10^5 cells per milliliter.

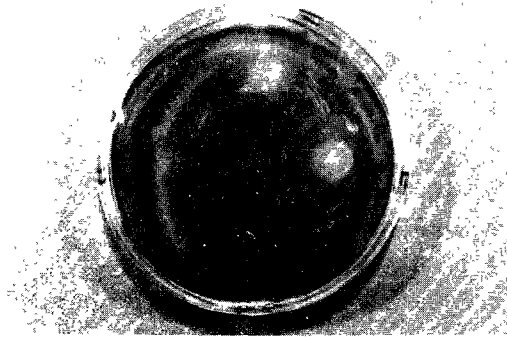


Fig. C. N₂-medical showing extensive discoloration.

$85 \pm 0.35) \times 10^5$ cells/ml 및 $(15.27 \pm 0.41) \times 10^5$ cells/ml 로 增加되었으며全體細胞中死細胞와生細胞의百分率은 formocresol, camphorated phenol, eugenol 및 對照群에서 平均値는 各各 92.60±0.52%와 7.40±0.52%, 6.34±0.55%와 93.66±0.55%, 15.34±0.75%와 84.66±0.75% 및 3.99±0.57%와 96.01±0.57%로 나타났다(Table 1 參照).

3. 實驗 3

根管充填材가 L細胞에 미치는 影響을 寒天平板法을 利用하여 實驗한 結果 Table 2와 같은 成績을 얻었다.

1) Freshly prepared materials(練和直後)

N₂-medical(Fig. C 參照)이 平均 直徑 18.3mm로 가장 큰 脫色部位를 나타냈으며 Mynol, AH26, N₂, Z. O.E., Calvital, Canals, Cavitec 및 Hypo-cal에서 各各 平均 直徑 16.2mm, 14.3mm, 13.8mm, 13.3mm,

12.7mm, 12.7mm, 13.0mm 및 9.7mm의 脫色部位를 나타냈고 Vitapex는 平均 直徑 8.3mm로 가장 작은 脫色部位를 나타냈으며 對照群(Fig. 5 參照)에서는 脫色部位를 나타내지 않았다(Table 2 參照).

2) Set materials (練和 4時間 經過後) N₂가 平均 直徑 17.5mm로 가장 큰 脫色部位를 나타냈으며 Mynol, N₂-medical, AH26, Z.O.E., Calvital, Canals 및 Hypo-cal에서 各各 平均 直徑 17.0mm, 16.7mm, 13.7mm, 13.2mm, 10.0mm, 10.2mm 및 8.8mm의 脫色部位를 나타냈고 Vitapex와 Cavitec은 平均 直徑 7.0mm로 가장 작은 脫色部位를 나타냈으며 對照群에서는 脫色部位를 나타내지 않았다(Table 2 參照).

3) Set materials (練和 24時間 經過後)

N₂가 18.3mm로 가장 큰 脫色部位를 나타냈으며 Mynol, N₂-medical, AH26, Z.O.E., Calvital, Canals 및 Hypo-cal에서 各各 平均 直徑 17.5mm, 15.7mm, 9.8mm, 11.0mm, 10.0mm, 10.2mm 및 8.7mm의 脫色部位를 나타냈고 Vitapex와 Cavitec은 平均 直徑 7.0mm로 가장 작은 脫色部位를 나타냈으며 對照群에서는 脫色部位를 나타내지 않았다(Table 2 參照).

4. 實驗 4

根管充填材가 L細胞에 미치는 影響을 ⁵¹Cr 放出法에 依한 標的細胞傷害試驗法을 利用하여 定量的으로 測定한 結果 Table 3과 같은 成績을 얻었다.

1) Freshly prepared materials(練和直後)

Vitapex와 Hypo-cal의 ⁵¹Cr 遊離量의 平均値는 16.23 ± 1.46%와 18.37 ± 2.06%로 다른 根管充填材와 比較하여 낮은 細胞毒性을 나타냈으나(P<0.001) 對照群과 比較하면 ⁵¹Cr 遊離量이 顯著하게 높았다(P<0.001).

Table 2. Size of macroscopic decolorized zone(mm)

Material	Freshly prepared material(0. hour)	Set material(4. hrs)	Set material(24. hrs)
	Mean	Mean	Mean
Control	—	—	—
Cavitec	13.0	7.0	7.0
AH26	14.3	13.7	9.8
Hypo-cal	9.7	8.8	8.7
Vitapex	8.3	7.0	7.0
N ₂	13.8	17.5	18.3
N ₂ -Medical	18.3	16.7	15.7
Canals	12.7	10.2	10.2
Mynol	16.2	17.0	17.5
Z.O.E.	13.3	13.2	11.0
Calvital	12.7	10.0	10.0

Table 3. Effect on L cells of different freshly prepared, 4-hour and 24-hour set root canal filling materials(Release of ⁵¹Cr in per cent.).

Material	Cell-material contact time(4. hours)		
	Freshly prepared material Mean±S.E.	Set material(4. hrs) Mean±S.E.	Set material(24. hrs) Mean±S.E.
Control	2.94±0.81%	2.94±0.81%	2.94±0.81%
Cavitec	41.26±1.56%	9.35±0.70%	9.10±0.37%
AH26	67.95±1.06%	63.70±1.07%	24.96±0.60%
Hypo-cal	18.37±2.06%	12.02±1.95%	10.32±0.99%
Vitapex	16.23±1.46%	9.32±1.42%	7.89±1.18%
N ₂	60.03±1.45%	80.52±0.99%	83.10±1.29%
N ₂ -Medical	83.97±1.05%	75.46±0.95%	72.27±1.38%
Canals	36.05±1.31%	29.33±0.97%	27.08±0.94%
Mynol	71.26±1.36%	75.93±1.11%	78.32±1.28%
Z.O.E.	63.12±1.22%	62.26±1.18%	54.94±1.61%
Calvital	34.39±1.07%	28.72±0.71%	20.73±1.34%

Calvital, Canals 및 Cavitec의 ⁵¹Cr 遊離량의 平均値는 各各 34.39±1.07%, 36.05±1.31% 및 41.26±1.56%로 다른 根管充填材와 比較하여 中等度の 細胞毒성을 나타냈으며 N₂-medical, N₂, Mynol, AH26 및 Z.O.E.의 ⁵¹Cr 遊離량의 平均値는 各各 83.97±1.05%, 60.03±1.45%, 71.26±1.36%, 67.95±1.06% 및 63.12±1.22%로 다른 根管充填材와 比較하여 높은 細胞毒성을 나타냈다(P<0.001).

2) Set materials(練和 4時間 經過 後) Vitapex, Cavitec 및 Hypo-cal의 ⁵¹Cr 遊離량의 平均値는 各各 9.32±1.42%, 9.35±0.70% 및 12.02±1.95%로 다른

根管充填材와 比較하여 낮은 細胞毒성을 나타냈으며(P<0.001), 이 中 Cavitec는 練和直後와 比較하여 볼 때 細胞毒성이 顯著하게 낮아졌다(P<0.001). Calvital과 Canals의 ⁵¹Cr 遊離량의 平均値는 各各 28.72±0.71%와 29.33±0.97%로 다른 根管充填材와 比較하여 中等度の 細胞毒성을 나타냈으며 N₂, N₂-medical, Mynol, AH26 및 Z.O.E.의 ⁵¹Cr 遊離량의 平均値는 80.52±0.99%, 75.46±0.95%, 75.93±1.11%, 63.70±1.07% 및 62.26±1.18%로 다른 根管充填材와 比較하여 높은 細胞毒성을 나타냈으며 이 中 N₂는 練和直後와 比較하여 볼 때 細胞毒성이 顯著하게 높아졌다(P<0.001).

3) Set materials(練和 24時間 經過 後)

Vitapex, Cavitec 및 Hypo-cal의 ^{51}Cr 遊離량의 平均值는 各各 $7.89 \pm 1.18\%$, $9.10 \pm 0.37\%$ 및 $10.32 \pm 0.99\%$ 로 다른 根管充填材와 比較하여 낮은 細胞毒성을 나타냈다($P < 0.001$). Calvital, AH26 및 Canals의 ^{51}Cr 遊離량의 平均值는 各各 $20.73 \pm 1.34\%$, $24.96 \pm 0.60\%$ 및 $27.08 \pm 0.94\%$ 로 다른 根管充填材와 比較하여 中等의 細胞毒성을 나타냈으며 이 中 AH26는 練和 4時間 經過 後와 比較하여 볼 때 細胞毒性이 顯著하게 낮아졌다($P < 0.001$).

N_2 , Mynol, N_2 -medical 및 Z.O.E.의 ^{51}Cr 遊離량의 平均值는 各各 $83.10 \pm 1.29\%$, $78.32 \pm 1.28\%$, $72.27 \pm 1.38\%$ 및 $54.94 \pm 1.61\%$ 로 다른 根管充填材와 比較하여 높은 細胞毒성을 나타냈으며 이 中 N_2 와 Mynol은 練和直後와 比較하여 볼 때 細胞毒性이 顯著하게 높아졌다($P < 0.001$).

IV. 總括 및 考按

細胞培養은 大氣, 溫度 및 培地를 人工的으로 調節 및 合成한 環境下에서 動物細胞의 生命力을 維持시켜 주는 것으로 齒醫學 領域에서 使用되는 各種 材料 및 藥物의 毒性을 評價하기 爲한 豫備實驗에서도 많이 利用되고 있다.

Tyas와 Browne⁵⁴⁾와 Kapsimalis²⁷⁾에 依하면 細胞培養을 利用한 實驗方法은 體內實驗方法보다 實驗條件이나 實驗評價基準을 標準化 시키기가 容易하고 細胞損傷의 程度를 定量的으로 測定하는 것 등이 可能한 뿐만 아니라 動物實驗에 있어서 個體 間의 差異나 種 間의 差異 等과 같은 變異要素를 除去시켜 줄 수 있다는 點에서 優秀한 長點을 가지고 있다고 報告하였다. 特히 根管消毒劑 및 根管充填材의 刺戟性은 大體的으로 化學毒性에 起因되므로 一般的으로 根管充填材는 硬化前, 根管消毒劑는 처음 附加 後의 짧은 期間 동안에 毒性이 가장 顯著하게 나타나는 體에 있어서는 短時間 內의 毒性을 크게 反映하지는 못하나 細胞培養을 利用한 體外實驗方法은 短時間 內에 이들 藥劑의 毒性이 評價되기 때문에 適切한 實驗方法이 되고 있는 것이다.

根管消毒劑는 細菌이 根管壁 象牙質의 象牙細管內 깊이 浸透해 들어가 있어 biomechanical 洗滌만으로는 除去가 容易하지 못할 境遇 等에 主로 感染根管內의 殺菌 目的으로 使用되는 藥物로서 Sommer⁵⁾과 Grossman⁴⁾ 등이 提示한 理想的인 條件을 모두 具備한 根管消毒劑는 現在까지 存在하지 않는다. 그러나 臨床

에서 根管消毒劑를 選擇할 때에는 上記 學者들이 提示한 理想的인 要求條件을 全部 充足시킬 수는 없다 하더라도 最少한 根管과 齒根端周圍組織 內의 細菌을 除去 및 減少시키는 데 効果의이면서 人體에 非刺戟的인 根管消毒劑가 選擇되어야만 하며, 根管治療의 成功的인 豫後를 期待하기 爲해서는 根管消毒劑의 殺菌效果 판단 아니라 人體에 對한 組織損傷程度에 關해서도 評價되어야만 한다. 根管內의 殘存齒髓 및 齒根端周圍組織에 對한 根管消毒劑의 刺戟性을 推定하는 데 가장 흔히 利用되고 있는 體外實驗方法으로 根管消毒劑와 細胞를 直接 接觸시켜 評價한 것이 大部分이며 이는 臨床에서 藥物을 刺신 paper point를 根管속으로 넣게 되는 境遇와 類似하기 때문에 採擇되고 있다.

그러나 最近에 여러 學者^{7,9)}들이 藥物을 刺신 綿球를 齒髓腔 內에 局限시키기를 勸奨하고 있는 데 藥物附加方法의 이러한 變化는 客觀的인 實驗成績을 通해서 얻은 結果라기 보다는 臨床 經驗에서 얻은 結果로 由來되어졌다고 한다.⁵⁵⁾ Naumovich³⁵⁾는 現在 臨床에서 使用되고 있는 大部分의 根管消毒劑는 낮은 表面張力을 가지고 있다고 報告한 바 있으며 根管內에 藥物을 넣지 않아도 全 根管에 擴散되어 殺菌效果를 나타낼 수 있다는 것을 Wantulok⁵⁶⁾, Cwikla¹⁴⁾, Treanor와 Goldman⁵³⁾ 등이 立證한 바 있고 Powell²⁷⁾은 蒸發氣體로서 充分한 殺菌效果를 나타내는 藥物은 液狀으로 直接 接觸시켰을 境遇보다 組織에 對한 刺戟이 훨씬 적을 것이라고 報告한 바 있다. 著者の 實驗 1과 2는 體外에서 實驗根管消毒劑의 蒸發氣體의 細胞毒성을 比較 評價하는데 있어 實際 體內 條件과 可能한 한 近接시키도록 하기 爲하여 齒髓腔과 根管의 解剖學的 形態와 比較의 類似한 capillary pipette을 利用하여 上述한 새로운 藥物附加方法에 符合되도록 藥物을 넣었다.

그리고 Fig. A와 같이 實驗操作을 함으로써 capillary pipette 內로 少量의 培地가 따라 들어오게 되는데 이것은 滲出物, gases 및 濕氣를 內包할 수 있는 實際 根管 內의 環境과도 多少 類似할 수가 있는 것이다. 著者の 實驗 1에서 formocresol는 蒸發氣體가 排出되는 部位는 勿論이고 tissue culture tube內에 形成된 monolayer의 全 表面에서 均等하게 많은 細胞를 脫落시키므로써 細胞의 密集度를 顯著하게 減少시켰으며 또한 大部分의 殘存細胞들은 그 固有의 形態를 喪失하였고 eugenol은 蒸發氣體가 排出되는 部位에서만 細胞를 脫落시켰으며 그 形態도 그 邊緣部에서만 둥글게 變化시켰으나 camphorated phenol는 蒸發氣體가 排出되는 部位에서만 細胞를 若干 脫落시켰을 뿐 細胞의 形態는 變

化시키지 않았다.

이러한 所見으로 보아 formocresol의 蒸發氣體는 eugenol 및 camphorated phenol보다 매우 甚한 細胞毒性을 나타낸다는 事實 外에도 formocresol, eugenol 및 camphorated phenol의 蒸發氣體는 細胞培養液 內에서의 擴散度나 蒸發氣體 生成能力 및 蒸發氣體에 對한 細胞反應 等に 顯著한 差異가 있다는 것을 暗示하는 것으로 思料된다. 즉 formocresol 蒸發氣體의 境遇에서와 같이 tissue culture tube 內에 形成된 monolayer의 全 表面에 影響을 미쳤다는 것은 細胞培養液 內에서의 蒸發氣體의 擴散도가 매우 높던가 아니면 蒸發氣體 生成能力이 매우 旺盛해서 緣由된 結果가 아닌가 思料되어지며 eugenol의 境遇에서는 formocresol과 比較하여 細胞培養液 內에서의 蒸發氣體의 擴散도가 微弱하든가 아니면 蒸發氣體 生成能力이 formocresol에 比해 微微하여 蒸發氣體가 排出되는 部位에서만 細胞毒性을 나타낸 것이 아닌가 思料되어진다.

그러나 camphorated phenol의 境遇에 있어서는 formocresol과 eugenol의 境遇와는 對照的으로 相異한 所見을 보여 주고 있는데 이는 蒸發氣體의 擴散도 및 生成能力 外에도 camphorated phenol 蒸發氣體와 細胞와의 反應에서 오는 어떤 要因에 依해서 緣由된 結果가 아닌가 思料되어진다. 그러나 實驗 1의 結果 만으로는 實驗根管消毒劑의 蒸發氣體가 L細胞의 生命力에 미치는 影響을 定量的으로 測定할 수 없으므로 實驗 2로 이러한 問題點을 補完하였다. 그 結果 對照群에서는 死細胞와 生細胞의 百分率의 平均値는 $3.99 \pm 0.57\%$ 와 $96.01 \pm 0.57\%$ 로 나타났으나 formocresol, eugenol 및 camphorated phenol에서의 平均値는 各各 $92.60 \pm 0.52\%$ 와 $7.40 \pm 0.52\%$, $15.34 \pm 0.75\%$ 와 $84.66 \pm 0.75\%$ 및 $6.34 \pm 0.55\%$ 와 $93.66 \pm 0.55\%$ 로 나타났다. 上記 實驗 1, 2의 結果로 볼 때 formocresol의 蒸發氣體는 L細胞에 對對적으로 影響을 미친다고 볼 수 있다.

그러나 臨床에서 根管消毒劑가 殘存齒髓 및 齒根端周圍組織에 미치는 反應은 使用한 根管消毒劑의 種類, 濃度, 物理的 性質 및 容量, 齒根端孔의 크기, 藥物附加方法, 齒周組織의 組織狀態 등과 같은 要素에 依해서 影響을 받게 되므로,⁵²⁾ 本 實驗의 結果를 實際 臨床에 適用하는 데에는 問題點이 전혀 없는 것은 아니다. 本 實驗에 使用된 根管消毒劑의 量 $0.04 \sim 0.05\text{mi}$ 은 Wesley⁵⁾이 行한 實驗에서 formocresol의 蒸發氣體가 根管內에 接種된 Staphylococcus aureus와 Streptococcus faecalis에 有效한 殺菌效果를 나타내는 formocresol의 最少量이 0.0025ml 였었다는 것이나 Treanor와 Goldman⁵³⁾이 根管消毒劑의 殺菌效果를 評價

하기 爲하여 使用한 0.01ml 보다도 훨씬 上廻한 것이었다. 그러나 아직까지도 臨床에서 使用되고 있는 各種 根管消毒劑의 臨床容量에 對하여 正確히 規定된 바는 없기 때문에 이에 對한 正確한 批評을 할 수는 없었으나 通常 臨床에서 使用되고 있는 量 보다는 클 것으로 思料되어진다.

그리고 Mohorn⁵³⁾이 報告한 拔髓後 齒根端部位 內에 있어서 陽壓과 陰壓에 對한 壓力關係도 確實히 根管內과 齒根端孔을 통한 根管消毒劑의 擴散도에 影響을 미칠 것이며, 이러한 擴散도는 實際 齒根端孔의 크기에 따라서도 影響을 받게 될 것이고 또한 細胞培養液에서와 齒根端周圍組織에서의 擴散도에 있어서도 相當한 差異가 있을 것으로 思料된다. 이 以外에도 培養細胞의 感受性을 들 수 있는데, 이는 齒根端周圍組織 보다는 藥物에 對한 毒性이 더욱 敏感할 것으로 思料된다. Vnder Wall⁵⁵⁾에 依하면 人體內에서 藥物은 食細胞와 淋巴液 및 血液에 依해서 稀釋 乃至는 消滅되어 진다고 報告하였다. 그러나 培養細胞에서는 이러한 效果를 진히 期待할 수가 없기 때문에 本 實驗의 結果를 臨床에 直接 關聯시키기 前에 上述한 要素들을 必히 考慮하여야 할 것이다.

또한 根管充填材는 臨床的으로 使用할 때 齒髓나 혹은 齒根端周圍組織의 結締組織과 直接 接觸시키기 때문에 이 藥劑의 刺戟性 및 毒性은 지난 數十年 동안 齒科 臨床에서 큰 關心이 되고 있다. Grossman⁵⁾에 依하면 理想的인 根管充填材는 根管內로 挿入後 收縮이 없고 濕氣에 影響을 받지 않아야 하며 制菌性을 지니면서도 齒質을 着色시키지 말아야 하며 齒根端周圍組織에 刺戟을 주어서는 안된다고 主張한 바 있으나 遺憾스럽게도 이들 全部를 充足시키는 材料는 지금까지 發見된 바 없다. 著者는 上記의 要求條件 中에서 特히 根管充填材를 生物學的 觀點으로 부터 檢討할 必要性을 痛感하여 現在 國內에서 널리 使用되고 있는 數種 根管充填材의 生物學的 性狀을 糾明하고자 體外에서 實驗 3과 4을 施行하여 實驗根管充填材의 細胞毒性을 比較評價하여 보았다. 著者의 實驗 3에서 利用한 寒天平板法은 Mohammad⁵²⁾이 指摘한 바와 같이 寒天層을 通하여 標的細胞에 影響을 미치게 되기 때문에 寒天平板法에 依해서 測定된 成績은 細胞毒性 自體 뿐만 아니라 根管充填材로부터 遊離되어져 나오는 有毒物質의 擴散도도 알아 볼 수 있는 것이다. 따라서 이러한 寒天層을 통한 實驗 根管充填材의 細胞到達方法은 實際 生體 內에서 齒根端周圍組織에 미치는 影響과 보다 가깝다고 생각되어지는 하나 Spangberg⁴³⁾는 이 寒天平板法으로는 細胞와 試料 間의 直接的인 接觸이 이루어질 수 없고 反應이 緩

慢하게 進行된다는 短點을 가지고 있다고 報告하였다.

寒天平板法에서는 通常 脫色部位의 크기와 cell lysis의 程度로 細胞毒성을 評價하는 尺度로 삼고 있는데¹⁴⁾ 2) 著者が 實驗한 바에 依하면 脫色部位를 肉眼的으로 測定하는 데에는 별다른 問題點이 없었고 또한 모든 實驗根管充填材의 脫色部位 內에서 實驗根管充填材에 따라 程度의 差異는 있었으나 Fig. 6, 7, 8에서 보는 바와 같은 cell lysis가 일어난 것을 確認할 수도 있었다. 그러나 脫色部位 內를 顯微鏡으로 觀察하여 cell lysis의 程度를 百分率로 正確히 表現하기는 容易한 일이 아니었고 또한 主觀的인 判斷基準에 따라 實驗成績이 相當히 左右될 수 있을 것으로 思料되어 本 實驗 3에서는 cell lysis의 程度는 評價하지 않았고 다만 脫色部位의 크기로 實驗根管充填材의 細胞毒성을 評價하는 指標로 삼았다. 그리고 Kawahara等²⁹⁾은 實驗片의 量 보다는 오히려 培養培地에 接觸되는 實驗片의 接觸面積을 嚴密하게 調節하여 주는 것이 齒科材料의 細胞毒성을 評價하는 實驗에 있어서 考慮하여야 할 重要한 問題點 中の 하나가 된다고 報告한 바 있다.

따라서 本 實驗에서 Tygon tube의 使用은 이러한 要求條件을 어느程度 充足시켜 주었다고 生覺된다. 그러나 이 寒天平板法 法으로는 實驗根管充填材의 細胞毒성을 正確히 比較 評價하는 데 不足함을 느껴 實驗 4에서 一般的으로 널리 使用되는 ⁵¹Cr 放出法에 依한 標的細胞傷害試驗法을 利用하여 實驗根管充填材의 細胞毒성을 定量的으로 測定하여, 그 結果, 두 가지 實驗에서 大體的으로 一致되는 實驗成績을 얻을 수가 있었다. 放射性 同位元素를 利用한 標的細胞傷害試驗法은 元來는 免疫學的 研究에서 作動 細胞의 攻擊을 받은 標的細胞가 傷害를 받아 細胞質 內에 含有하고 있는 放射性同位元素가 遊離되는 量을 測定하여 細胞損傷을 定量的으로 評價하는 데 利用되었으나^{12, 19, 20, 25, 39)} Spangberg⁴³⁾가 처음으로 材料의 毒性을 評價하기 爲해서 이 方法을 利用한 後 根管治療學 領域에서도 藥材의 細胞毒성을 評價하는 데 많이 利用되게 되었다.

標的細胞를 標示하는 데 利用되는 放射性 同位元素로는 細胞의 DNA 合成으로 編入되어지는 ³H 및 ¹⁴C-thymidine, 細胞質 및 細胞核의 構成物質인 磷에 標示되는 ³²P-phosphate와 細胞의 蛋白質과 其他 다른 細胞構成成分에 結合되는 Na₂⁵¹CrO₄ 등이 있으며 이 中 Na₂⁵¹CrO₄는 ³H 및 ¹⁴C-thymidine과 같은 放射活性의 安定성은 多少 缺如하나 Na₂⁵¹CrO₄(chromate)는 細胞와 結合되는 동안에 還元되어지기 때문에 再 利用되지 않는다는 長點을 가지고 있어⁴³⁾ 標的細胞傷害試驗法에서 細胞損傷을 客觀的으로 正確하게 定量的으로 測定하는

데 利用되어지고 있다. 著者の 實驗 3. 4에 依하면 細胞毒性이 全無한 根管充填材는 없었으나 그 中 Ca(OH)₂ 系統인 Vitapex 및 Hypo-cal와 酸化亞鉛 eugenol 系統인 Cavitec이 다른 根管充填材보다 낮은 細胞毒성을 나타내는 反面에 N₂ 및 Mynol 系統(Therapeutic sealer cements)인 N₂, N₂-medical 및 Mynol이 높은 細胞毒성을 나타냈고 Ca(OH)₂ 系統인 Calvital, 酸化亞鉛 eugenol 系統인 Canals 및 Z.O.E.와 非 eugenol 系統인 AH26이 中等度의 細胞毒성을 나타냈다. 또 練和後의 經過 時間 別로 觀察한 境遇(Fig. B 參照) 大部分의 根管充填材는 時間이 經過함에 따라 細胞毒性이 減少되는 傾向을 보여 주었으나 N₂와 Mynol은 練和 後 時間이 經過함에 따라 細胞毒性이 增加하는 傾向을 나타내었다. Keresztesi와 Kellner³⁰⁾와 Rappaport等³⁸⁾은 組織細胞培養을, Spangberg와 Langland⁴⁵⁾, Antrim¹⁰⁾은 ⁵¹Cr 放出法에 依한 標的細胞傷害試驗法을, Mohammad等³²⁾은 寒天平板法을 各各 利用해서 數種 根管充填材의 細胞毒성을 評價한 實驗에서 N₂는 細胞毒性이 매우 甚한 것으로 報告된 바 이는 本 實驗의 結果와도 類似하였으며, 또한 Rappaport等³⁸⁾의 實驗에서 N₂-medical은 N₂와 比較한 結果 細胞毒性이 類似하였으나 N₂ 보다는 多少 弱한 細胞毒성을 나타냈는데 本 實驗에서는 練和直後에는 N₂-medical이 N₂보다 높은 細胞毒성을 나타냈으나 練和 4時間 經過 後 부터는 N₂ 보다 낮은 細胞毒성을 나타내었는데 이는 實驗方法의 差異로 基因되어진 結果로 思料된다.

그리고 本 實驗에서 N₂와 Mynol은 練和 後 時間이 經過함에 따라 細胞毒性이 增加하는 傾向을 나타냈는데 이는 Kawahara等²⁹⁾의 組織培養을 利用한 實驗에서 N₂는 練和直後에는 強力한 細胞毒성을 나타내지만 硬化되어감에 따라 細胞毒性은 減少되어진다는 實驗結果와는 相異하였으나 Spangberg의 Laneland⁴⁵⁾의 實驗에서는 練和直後보다는 오히려 24時間 동안 硬化된 N₂가 細胞毒性이 더 컸다고 報告한 實驗結果와는 一致하였다. 이러한 理由는 正確히 究明할 수 없으나 Spangberg⁴²⁾가 培地 內에 實驗根管充填材를 各各 1日 및 10日 동안 넣어 遊離되어져 나온 實驗根管充填材의 水溶成分의 細胞毒성을 評價하기 爲하여 細胞培養을 利用한 實驗에서 N₂는 時間이 經過될수록 細胞毒性이 增加하였다는 實驗結果와 N₂ 및 몇몇 therapeutic sealer cements는 硬化時間이 짧고, 抗炎劑가 含有되어 있고 組織을 固定시키는 性質을 가지고 있기 때문에 初期 炎症反應이 相當히 遲延되어 나타나게 되나 이 藥劑에 含有되어 있는 治療成分이 遊離됨에 따라 組織反應은 꾸준히 增加된다고 記述한 Cohen과 Burns³⁾의 主張

을 參考로 할 때 N_2 와 Mynol에 含有되어 있는 治療成分에 依해서 惹起되어지는 結果가 아닌가 思料된다.

本 實驗에서 AH26는 中等度の 細胞毒성을 나타냈는데 이는 Kawahara²⁹⁾가 組織培養을 利用한 實驗에서 AH26 實驗片이 包含된 培地 內에서 正常的인 細胞增殖을 보였기 때문에 細胞毒성을 나타내지 않는다고 報告한 實驗結果와 Kataoka²⁸⁾의 組織培養을 利用한 實驗에서 AH26 實驗片을 넣은 培地 內와 對照群의 培地 內에서의 細胞增殖에는 거의 認定한 만한 差異가 없었기 때문에 細胞毒성을 나타내지 않는다고 報告한 實驗結果와는 相異하였으나, Spangberg⁴²⁾, Rappaport³⁸⁾, Spangberg와 Langeland⁴⁵⁾ 및 Mohammad³²⁾의 各各 獨立된 實驗에서 AH26이 나타내는 細胞毒성과는 多少 差異가 있었기는 하나 比較的 類似한 結果를 나타내었다. 그리고 本 實驗에서 AH26는 練和直後에서 4時間 經過後까지는 細胞毒성에 큰 變化가 없었으나 24時間 經過後에는 細胞毒성이 顯著히 減少되는 傾向을 나타내었는데 이는 Mohammad³²⁾과 Spangberg와 Langeland⁴⁵⁾의 實驗結果들과 類似하였다. Z.O.E.는 本 實驗에서 AH26과 비슷한 程度の 細胞毒성을 나타냈는데 이는 Rappaport³⁸⁾과 Mohammad³²⁾의 實驗結果보다는 높은 細胞毒성을 나타낸 것이다.

現在까지도 臨床에서 根管充填材로 Z.O.E.를 使用한 境遇 液粉 比率에 對하여 正確히 規定된 바 없고 Rappaport³⁸⁾과 Mohammad³²⁾의 實驗에서도 이에 對한 意見이 없었기에 本 實驗과의 比較에 어려움을 느꼈으나 Pattersen과 Helgeland³⁶⁾는 Z.O.E.의 液粉 比率을 1:5로 하여 實驗한 結果는 本 實驗에서 Z.O.E.의 液粉 比率을 1:3으로 하여 實驗한 結果보다는 낮은 細胞毒성을 나타냈었다. 따라서 實驗成績에 있어서의 本 實驗과의 多少의 差異는 練和時 zinc oxide와 eugenol의 比率에 따라 가장 큰 影響을 받았으리라라고 生覺된다.

本 實驗에서 Z.O.E.는 練和直後나 練和 24時間 經過後의 細胞毒성에는 比較的 差異가 없었는데 이는 Mohammad³²⁾의 實驗結果와 類似하였으며 根管充填材에 eugenol 含量이 많으면 많을수록 根管充填材의 硬化時間을 延遲시킬 뿐만 아니라 eugenol이 組織 속으로 遊離되어서 長時間의 組織 刺戟을 惹起시키게 된다는 Cohen과 Burns³⁾의 主張과도 多少 一致된다고 思料된다. 그리고 本 實驗에서 Vitapex, Hypo-cal와 Cavitec는 낮은 細胞毒성을 나타냈고 Vitapex와 Hypo-cal에서는 練和直後와 練和 24時間 經過後의 細胞毒성에는 比較的 差異가 없었으며 이 중 Hypo-cal은 片岡喜平²³⁾의 寒天平板法을 利用한 實驗에서 練和直後와 24時間 試

料와의 細胞毒성에는 거의 差異가 없었음을 報告한 結果와 一致하였다.

그러나 本 實驗에서 Cavitec는 練和直後에는 中等度の 細胞毒성을 나타냈으나 練和 4時間 經過後 부터는 細胞毒성이 顯著하게 減少되었는데 이는 片岡喜平²³⁾의 實驗에서 Cavitec는 練和直後에는 強力한 細胞毒성을 나타냈지만 練和 24時間 後에는 거의 細胞毒성이 認定되지 않았음을 報告한 實驗結果와 類似하였다. 또한 本 實驗에서 Canals와 Calvital는 比較的 낮은 程度の 細胞毒성을 나타냈으며 이 중 Calvital는 Kataoka²⁸⁾의 細胞培養을 利用한 實驗에서 實驗片을 培地 內에 넣지 않은 對照群에서는 처음 培地에 注入된 細胞核의 數가 5×10^4 cells/ml에서 7日 培養後에 24×10^4 cells/ml로 增加되는데 比하여 Calvital 實驗片을 培地 內에 넣은 實驗群에서는 7日 培養後에 17×10^4 cells/ml로 增加하여 比較的 낮은 細胞毒성을 나타낸다고 報告한 實驗結果와도 比較的 類似하다.

以上과 같은 本 實驗의 結果로 미루어 보아 몇 種의 實驗根管充填材에서 多少의 例外는 있기는 하나 大體的으로 $Ca(OH)_2$ 系統의 實驗根管充填材는 細胞毒성이 比較的 微弱한 反面에 N_2 및 Mynol 系統(Therapeutic sealer cements)는 甚한 細胞毒성을 나타내고 있음을 알 수 있다. 그러나 體外에서 實驗하여 얻은 結果를 臨床에 直接 適用하는 데에는 많은 問題點이 內包되어 있는 것만은 自明하다. Rappaport³⁸⁾은 體外에서 組織細胞培養을 利用하여 實驗한 結果와 體內에서 埋植 實驗한 結果와는 多少의 差異는 있었으나 어느 程度の 相關關係를 보여 주었다고 報告하였으나 Kawahara²⁹⁾은 體外와 體內的 實驗結果와의 사이에는 顯著한 差異가 있음을 報告한 바 있다.

그러나 그는 臨床에서 使用 前에 in vitro 實驗으로 여러가지 齒科材料에 對한 生物學的 性狀을 分析의 方法으로 探究하는 것이 必要하다고 記述하면서 最近의 組織培養細胞를 利用하는 實驗方法이 發達됨에 따라 in vitro의 實驗方法은 齒科材料의 生物學的 標準化를 規定하는데 有用한 方法 中の 하나가 될 수 있다고 報告하였다. 實際人體에서 根管充填材에 對한 組織反應은 根管充填材 自體의 毒性和 物理的 性質 中の 어떤 要因이 複合되어 나타나는 것이기 때문에 Spangberg와 Langeland⁴⁵⁾에 依하면 細胞培養을 利用한 體外實驗에서 細胞毒성이 甚한 物質이 組織刺戟을 惹起시킨다는것은 豫見한 수는 있어도 낮은 細胞毒성을 나타내는 것이 組織損傷을 그만큼 낮게 나타낸다는 等式은 一般的으로 成立되지 않는다고 報告하였다.

이는 人體 組織液 內의 吸收度, 溶解度 및 破砕度の

差異에 따라 胞食作用과 炎症反應의 程度가 左右되기 때문이라고 報告한 바 있다. 이러한 理由로 體外에서 細胞培養을 利用한 實驗으로 얻은 結果로 生體 內의 結締組織의 細胞에 對한 損傷의 程度를 正確히 推定한다는 것은 相當한 問題點이 있는 것이다. 그러므로 著者の 細胞培養을 利用한 實驗方法은 매우 銳敏한 實驗이기는 하나 L細胞에 細胞毒성을 나타내는 實驗根管充填材가 實際 臨床 使用時에 毒性을 나타내지 않을 수도 있다는 것과 體外實驗에서 細胞毒성을 나타내는 順序대로 人體에 有害한 影響을 미치지 않을 수도 있다고 思料된다. 따라서 體外實驗 評價에서 認定된 材料들을 實驗動物을 利用한 埋植實驗을 通해서 보다 깊은 研究가 繼續되어야 할 것으로 期待된다.

V. 結 論

著者は 生體 外(in vitro)에서 標的細胞로 L細胞를 利用하여 根管消毒劑의 蒸發氣體에 對한 細胞毒성은 著者が 考案한 試驗管 內에서 組織細胞培養法으로 比較 研究하였고 根管充填材의 細胞毒성은 寒天平板法 및 ^{51}Cr 放出法에 依한 標的細胞傷害試驗法으로 比較 研究한 結果 다음과 같은 結論을 얻었다.

1. 根管消毒劑의 蒸發氣體는 모두 細胞毒성을 나타내었고 이 中 formocresol이 가장 甚한 細胞毒성을 나타냈으며 camphorated phenol이 가장 낮은 細胞毒성을 나타내었다.
2. 根管充填材의 境遇, 練和直後, 4時間 및 24時間 經過 後에서 모두 細胞毒성을 나타내었다.
3. 根管充填材 中 練和直後에는 N_2 -medical, 練和 4時間 및 24時間 經過 後에는 N_2 가 가장 甚한 細胞毒성을 나타냈으며 모든 實驗群에서 共히 Vitapex가 가장 낮은 細胞毒성을 나타내었다.
4. N_2 와 Mynol을 除外한 모든 根管充填材는 練和 後 時間이 經過할 수록 細胞毒性이 減少되어지는 傾向이 있다.

References

- 1) 布山繁美, 渡部 茂, 仙道 富士郎: 實驗動物의 Natural cytotoxicity. 免疫實驗操作法 IX, 日本免疫學會編, p.2791-2794, 1980.
- 2) 片岡喜平: 各種市販覆罩劑의 細胞毒性에 關する 實驗的 研究(in vitro). (H) 齒科醫學, 43(4): 574-575, 1980.
- 3) Cohen, S., and Burns, R.C.: Pathways of the pulp. 2nd Ed., St. Louis. Toronto. London,

- The C.V. Mosby Co., p.371, 1980.
- 4) Grossman, L.I.: Endodontic practice. 10th Ed., Philadelphia, Lea & Febiger, p.252, 1981.
 - 5) Grossman, L.I.: Endodontic practice. 10th Ed., Philadelphia, Lea & Febiger, p.279, 1981.
 - 6) Ingle, J.I., and Beveridge, E.E.: Endodontics. 2nd Ed., Philadelphia, Lea & Febiger, p.217, 1976.
 - 7) Ingle, J.I., and Beveridge, E.E.: Endodontics. 2nd Ed., Philadelphia, Lea & Febiger, p.585, 1976.
 - 8) Sommer, R.P., Ostrander, F.D., and Crowley, M.C.: Clinical endodontics. 3rd Ed., Philadelphia. London, W.B. Saunders Co., p.178, 1966.
 - 9) Weine, F.S.: Endodontic therapy. 2nd Ed., St. Louis, The C.V. Mosby Co., p. 233, 1976.
 - 10) Antrim, D.D.: Evaluation of the cytotoxicity of root canal sealing agents on tissue culture cells in vitro: Grossman's sealer, N_2 (permanent), Rickert's sealer, and Cavit. J. Endod., 2: 111-116, 1976.
 - 11) Austian, J.: General toxicity and screening tests for dental materials. Int. Dental J., 24: 235-250, 1974.
 - 12) Bunting, W.L., Kiely, J.M., and Owen, C. A.: Radiochromium-labeled lymphocytes in rat. Proc. Soc. Exp. Biol., 113: 370-374, 1963.
 - 13) Coolidge, E.D.: Reaction of dog tissue to drugs used in root canal treatment. J.A.D.A., 19: 747-759, 1932.
 - 14) Cwikla, J.R.: The vaporization and capillary effect of endodontic medicaments. Oral Surg., 34: 117-121, 1972.
 - 15) Engström, B., and Spangberg, L.: Studies on root canal medicaments. I. Cytotoxic effect of root canal antiseptics. Acta Odontol. Scand., 25: 77-84, 1967.
 - 16) Feldman, G., Nyborg, H., and Conrado, C.A.: Tissue reactions to root filling materials. III. A comparison between implants of the root filling material N_2 and silver in the jaws of rabbits. Odontol. Rev., 18: 387-393, 1967.
 - 17) Friend, L.A., and Browne, R.M.: Tissue reactions to some root filling materials. Brit.

- Dental J., 125 : 291—298, 1968.
- 18) Gazi, H.A., Nayak, R.G., and Bhat, K.S.: Tissue-irritation potential of dilute formocresol. *Oral Surg.*, 51 : 74—85, 1981.
 - 19) Granger, G.A., and Williams, T.W.: Lymphocyte cytotoxicity in vitro: Activation and release of a cytotoxic factor. *Nature*, 218 : 1253—1254, 1968.
 - 20) Green, H., Fleischer, R.A., Barrow, P., and Goldberg, B.: The cytotoxic action of immune gamma globulin and complement on Krebs ascites tumor cells. II. Chemical studies. *J. Exp. Med.*, 109 : 511—521, 1959.
 - 21) Grossman, L.I.: Irritating potentialities of root canal medicaments. A preliminary report including nonspecific drugs. *American J. of Ortho. & O.S.*, 30 : 564—566, 1944.
 - 22) Guess, W.L., Rosenbluth, A., Schmidt, B., and Autian, J.: Agar diffusion method for toxicity screening of plastics on cultured cell monolayers. *J. Pharm. Sci.*, 54 : 1545—1547, 1965.
 - 23) Guttuso, J.: Histopathologic study of rat connective tissue responses to endodontic materials. *O.S., O.M. & O. P.*, 16 : 713—727, 1963.
 - 24) Harrison, J.W., and Madonia, J.V.: The toxicity of parachlorophenol. *Oral Surg.*, 32 : 90—99, 1971.
 - 25) Holm, G., and Perlmann, P.: Quantitative studies on phytohaemagglutinin induced cytotoxicity by human lymphocytes against homologous cells in tissue culture. *Immunology*, 12 : 525—536, 1967.
 - 26) Ingle, J.I., and Zeldow, B.J.: An evaluation of mechanical instrumentation and the negative culture in endodontic therapy. *J.A.D.A.*, 57 : 471—476, 1958.
 - 27) Kapsimalis, P.: Toxicity studies of cured epoxy resins. *J. Dent. Res.*, 39 : 1072, 1960.
 - 28) Kataoka, T.: Studies on the tissue irritable action of various canal filling materials by means of tissue culture. *J. Osaka Dent. U.*, 6 : 158—159, 1972.
 - 29) Kawahara, H., Yamagami, A., and Nakamura, M.Jr.: Biological testing of dental materials by means of tissue culture. *Int. Dental J.*, 18 : 443—465, 1968.
 - 30) Keresztesi, K., and Kellner, G.: The biological effect of root filling materials. *Int. Dental J.*, 16 : 222—231, 1966.
 - 31) Langeland, K., Guttuso, J., Langeland, L.K., and Tobon, G.: Methods in the study of biologic responses to endodontic materials. *Tissue response to N₂. O.S., O.M. & O.P.*, 27 : 522—541, 1969.
 - 32) Mohammad, 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—773, 1978.
 - 33) Mohorn, H.W., Dowson, J., and Blankenship, J.R.: Odontic periapical pressure following vital pulp extirpation. *Oral Surg.*, 31 : 536—544, 1971.
 - 34) Munaco, F.S., Miller, W.A., and Everett, M.M.: A study of long-term toxicity of endodontic materials with use of an in vitro model. *J. Endod.*, 4 : 151—157, 1978.
 - 35) Naumovich, D.B.: Surface tension and pH of durgs in root canal therapy. *O.S., O.M. & O.P.*, 16 : 965—968, 1963.
 - 36) Pettersen, A.H., and Helgeland, K.: Evaluation of biologic effects of dental materials using four different cell culture techniques. *Scand. J. Dent. Res.*, 85 : 291—296, 1977.
 - 37) Powell, D.L., Marshall, F.J., and Melfi, R.C.: A histopathologic evaluation of the minimum effective doses of some endodontic drugs. *Oral Surg.*, 36 : 261—272, 1973.
 - 38) Rappaport, H.M., J., H.N., Lilly, G.E., and Kapsimalis, P.: Toxicity of endodontic filling materials. *O.S., O.M. & O.P.*, 18 : 785—802, 1964.
 - 39) Sanderson, A.R.: Applications of iso-immune cytolysis using radiolabelled target cells. *Nature*, 204 : 204—253, 1964.
 - 40) Schilder, H., and Amsterdam, M.: Inflammatory potential of root canal medicaments. *O.S., O.M. & O.P.*, 12 : 211—221, 1959.
 - 41) Snyder, D.E., Seltzer, S., and Moodnik, R.: Effects of N₂ in experimental endodontic the-

- rapy. O.S., O.M. & O.P., 21 : 635—656, 1966.
- 42) Spangberg, L.: Biological effects of root canal filling materials. 2. Effect in vitro of water-soluble components of root canal filling material on HeLa cells. *Odontol. Rev.*, 20 : 133—145, 1969.
 - 43) Spangberg, L.: Kinetic and quantitative evaluation of material cytotoxicity in vitro. *Oral Surg.*, 35 : 389—401, 1973.
 - 44) Spangberg, L., Engström, B., and Langeland, K.: Biologic effects of dental materials. 3. Toxicity and antimicrobial effect of endodontic antiseptics in vitro. *Oral Surg.*, 36 : 856—871, 1973.
 - 45) Spangberg, L., and Langeland, K.: Biologic effects of dental materials. 1. Toxicity of root canal filling materials on HeLa cells in vitro. *Oral Surg.*, 35 : 402—414, 1973.
 - 46) Stewart, G.G.: The importance of chemomechanical preparation of the root canal. *O.S., O.M. & O.P.*, 8 : 993—997, 1955.
 - 47) Stewart, G.G., and Gautieri, R.F.: Reduced inflammatory root canal medication. *O.S., O.M. & O.P.*, 15 : 715—720, 1962.
 - 48) Straffon, L.H., and Han, S.S.: The effect of formocresol on hamster connective tissue cells. A histologic and quantitative radioautographic study with Proline-³H. *Arch. Oral Biol.*, 13 : 271—288, 1968.
 - 49) Thé, S.D., Bauer, F.W., and De Grood, R.M.: Long-distance cytotoxicity of parachlorophenol and formalin in vitro. *J. Endod.*, 2 : 78—80, 1976.
 - 50) Thé, S.D., and Maltha, J.C.: Long distance action of parachlorophenol and formalin in polyethylene tubes implanted in guinea pigs. *Oral Surg.*, 41 : 244—250 1976.
 - 51) Thé, S.D., and Maltha, J.C.: Reactions of guinea pig subcutaneous connective tissue to direct or long distance exposure to parachlorophenol or formalin-containing endodontic drugs. *J. Endod.*, 7 : 22—26, 1981.
 - 52) Torneck, C.D.: Reaction of hamster tissue to drugs used in sterilization of the root canal. *O.S., O.M. & O.P.*, 14 : 730—747, 1961.
 - 53) Treanor, H.F., and Goldman, M.: Bactericidal efficiency of intracanal medications. *Oral Surg.*, 33 : 791—796, 1972.
 - 54) Tyas, M.J., and Browne, R.M.: Biological testing of dental restorative materials. *J. Oral Rehabil.*, 4 : 275—290, 1977.
 - 55) Vander Wall, G.L., Dowson, J., and Jr., C.S.: Antibacterial efficacy and cytotoxicity of three endodontic drugs. *Oral Surg.*, 33 : 230—241, 1972.
 - 56) Wantulok, J.C., Wash, S., and Brown, J.I.: An in vitro study of the diffusibility of camphorated parachlorophenol and metacresylacetate in the root canal. *Oral Surg.*, 34 : 653—660, 1972.
 - 57) Wennberg, A.: Biological evaluation of root canal sealers using in vitro and in vivo methods. *J. Endod.*, 6 : 784—787. 1980.
 - 58) Wesley, D.J., Marshall, F.J., and Rosen, S.: The quantitation of formocresol as a root canal medicament. *Oral Surg.*, 29 : 603—612, 1970.

Evaluation of the Cytotoxicity of Root Canal Disinfectants and Root Canal Sealers on L Cells in Vitro

Choong Mo Chung, D.D.S., M.S.D.

Dept. of Operative Dentistry, Division of Dentistry, Graduate School, Kyung Hee University.

(Directed by Associate Professor, Ho Young Choi, D.D.S., Ph.D.)

This study was to evaluate the cytotoxic effect of three root canal disinfectants (formocresol, camphorated phenol and eugenol) and ten root canal sealers (Cavitec, Hypo-cal, Vitapex, AH26, Canals, Mynol, N₂, N₂-Medical, Z.O.E. and Calvital) in vitro. The experiments were performed in four different modes. In the first and second experiment, the "long-distance" cytotoxicity of three root canal disinfectants were tested on L cells. In the third experiment, ten root canal sealers were tested for cytotoxicity by means of the tissue culture-agar overlay method immediately, 4 and 24 hours after the experiment. In the fourth experiment, the study with radioactively labeled L cells were employed to determine the relative cytotoxicity of ten root canal sealers.

The results were as follows;

1. Every vapors from disinfectants showed [more or less cytotoxicity. Of the three disinfectants, formocresol appeared to be the highest cytotoxic effect and camphorated phenol was the lowest.
2. Root canal sealers tested in this study showed cytotoxicity at every stage of time intervals.
3. The highest cytotoxic effect was freshly mixed N₂ medical and N₂ also revealed the highest cytotoxic effect after 4 or 24 hours among these materials. Vitapex was found the lowest cytotoxic effect at all experimental stage.
4. Root canal sealers except N₂ and Mynol showed cytotoxic effect were decreased cytotoxicity according to the time elapsed.

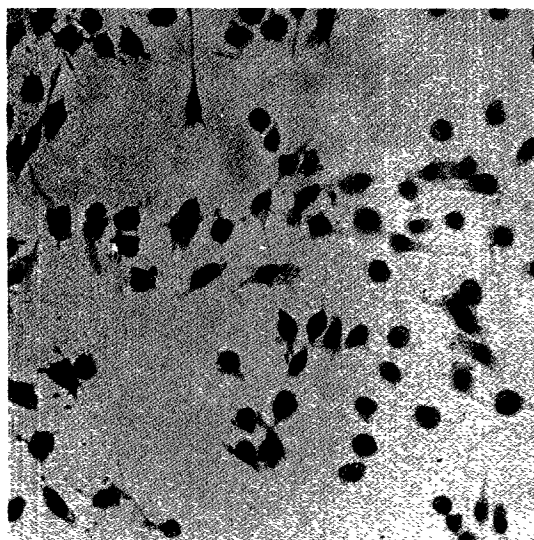


Fig.1. Long-distance toxicity of formocresol on L cell cultures after 24 hours (H & E, Orig mag. x50).

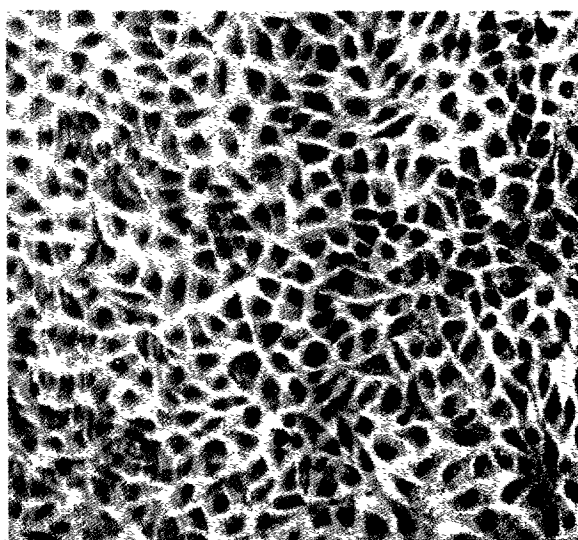


Fig.2. Control L cell cultures in tissue culture tube after 48 hours (H & E, Orig mag. x25).

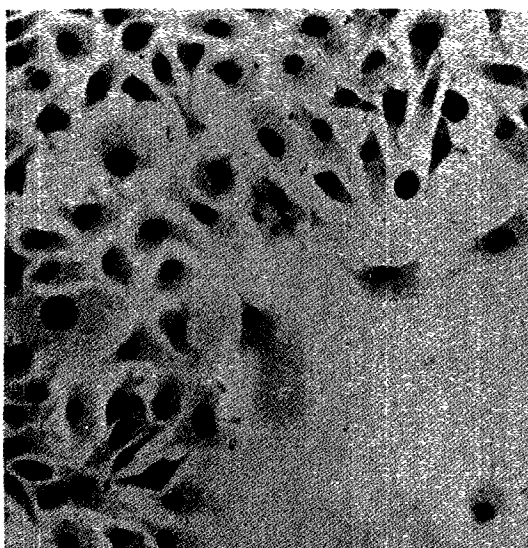


Fig.3. Long-distance toxicity of camphorated phenol on L cell cultures after 24 hours (H & E, Orig mag. x50).

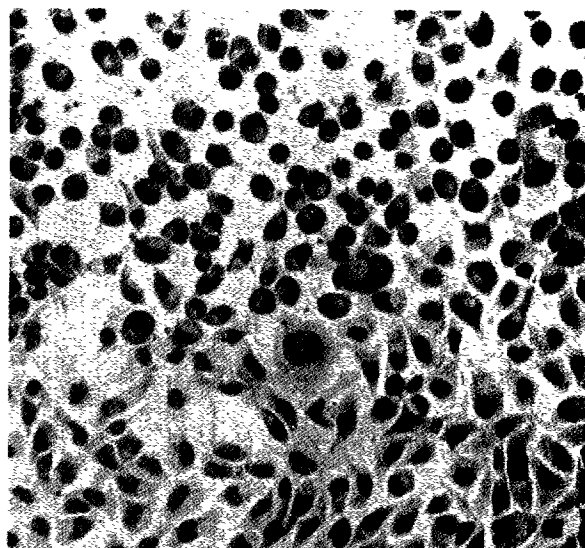


Fig.4. Long-distance toxicity of eugenol on L cell cultures after 24 hours (H & E, Orig mag. x50).

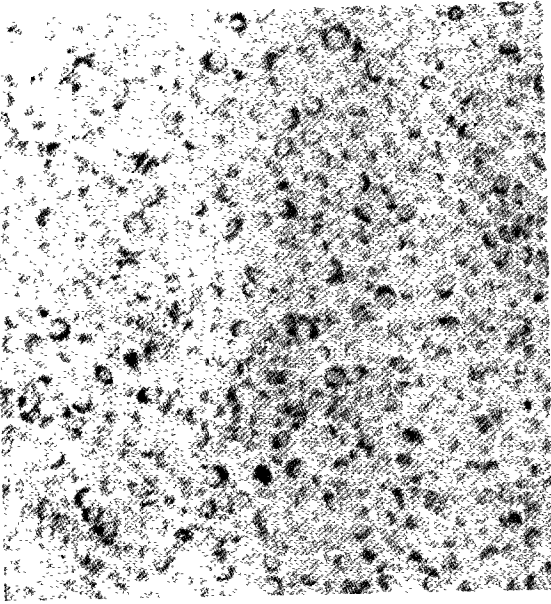


Fig. 5. Control showing no decolorization and no cell lysis.

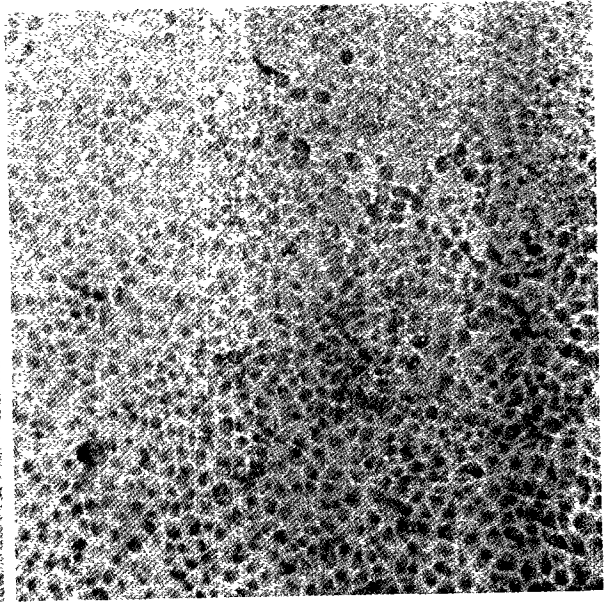


Fig. 6. Hypo-cal showing extensive cell lysis in decolorized zone.

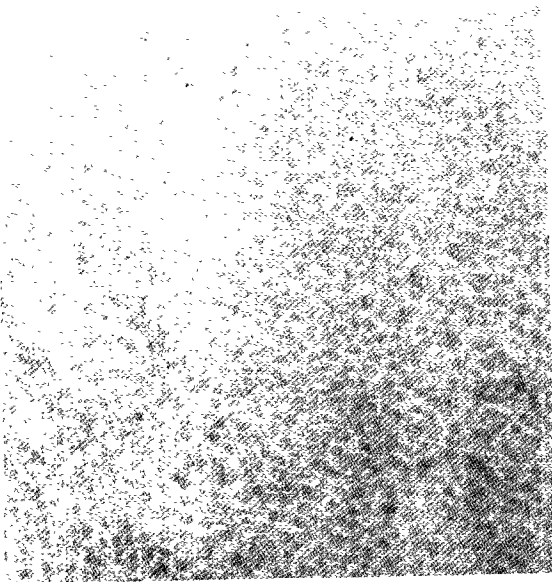


Fig. 7. Mynol showing extensive cell lysis.

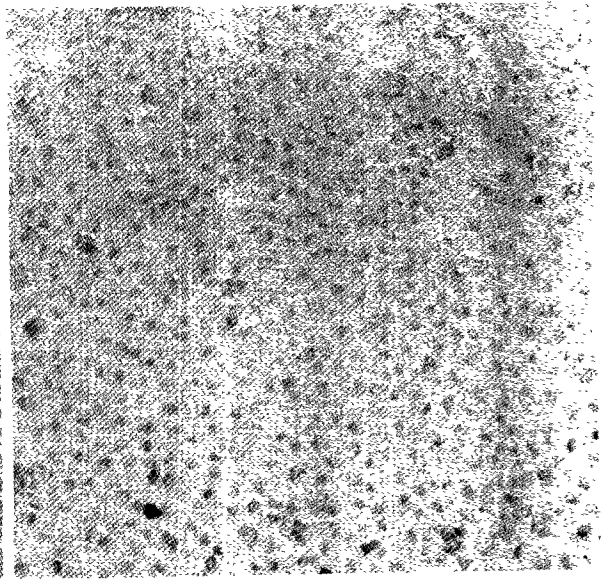


Fig. 8. Vitapex showing a significantly lower cell lysis than all other root canal sealers.