대한치주과학회지 : Vol. 29, No. 3, 1999

다양한 치은 연하 수복물에 대한 치은 섬유아 세포 부착 연구

이은숙 · 송인택 · 임정수 · 김형섭

전북대학교 치과대학 치주과학 교실
전북대학교 구강생체과학 연구소

I. 서론

치주수술후 치유과정은 매우 복잡한데 판막이 위치되어지고 봉합되었을 때 조직은 기본적으로 물리적, 생리적으로 다른 면과 접촉하게 된다. 이때 치근이나 치은, 치조골이 아닌 다양한 치과재료와 접촉하는 경우도 있게 되는데 치근 흡수, 파절, 천공, 우식 등의 치근병소를 수복한 경우이다. 수복물은 생리적인 조직이 아니기 때문에 즉 혈액 공급이 되지 않으므로 치유 과정에 있어서 다른 중개요인 즉 수복물의 생체적합성, 표면젖음성, 표면형태, 구성 등이 영향을 미치게 된다.

최근 치근병소를 여러 수복재료를 이용하여 성공적으로 치료한 증례들이 보고되어져 왔다. 근관치료시 발생한 천공부위를 Randall은 아말감과 치은이식술로 치료한 증례를 보고하였으며 Goon은 글래스아이오노머 수복물과 치은이식술을 이용하였다. Herbert는 치근외흡수를 콤포지트레진과 도재를 이용하여 치료한 후 더 이상의 치근흡수가 나타나지 않았고 치료 후 잔존치주낭이나 탐침시 출혈이 없었음을 보고하였다. Andreasen은 치근단절제술 후 치근파절로 발치한 치아를 검사한 결과 충전물로 사용하였던 레진 부위에 백악질 생성과 조직재생이 보였다는 증례를 발표하였고 충전물로서는 레진이 아말감 보다 우수하다고 하였다. Dragoo는 치근외흡수, 파절, 우식, 천공 부위를 레진강화형 글래스아이오노머 수복물로 치료한 후 발치한 치아 5개의 조직학적 검사를 통해 수복물상에 상피와 결체조직 부착을 보고하였고 이러한 결과를 토대로 골을 삭제하거나 심미적인 문제를 가진 치관연장술의 많은 부분이 수복물로 대체될 수 있을 것으로 보았다. 최근에 Anderegg는 제3급 분지부 병소 치료시 레진강화형 글래스아이오노머 수복물을 차폐물로 사용하여 치아동요도 감소, 치태지수 감소, 탐침시 출혈과 치주낭깊이가 감소된 증례를 보고하였으며 레진강화형 글래스아이오노머 시멘트를 차폐물로 추천하였다. 차폐물로 이용할 때의 장점으로 분지부에 위치시키기가 용이하며 봉합, 이차수술이 필요 없으며 상피가 부착할 수 있고 치은판막으로 완전한 피개가 필요없고 불소방출로 인한 효과, 감염위험이 적은 점 등을 들고 있다.

이러한 여러 술식에 사용되고 있는 치은연하 수복물의 이상적인 조건으로 Dragoo는 생체적합성, 이중경화구조, 부착성, 불소방출, 방사선불투과성, 치밀성, 표면경도, 구강액에 대한 불용성, 미세누출이 없을 것, 열팽창계수가 낮고

경화수축이 적은 것 등을 들었으며 현재 위 조건을 모두 만족시키는 재료는 없지만 레진강화형 글래스아이오노머 수복물이 가장 적합한 것으로 보인다고 하였다.

즉, 치은연하수복물은 조직과 직접 접촉하게 되므로 적절한 물리적 성질뿐만 아니라 생체적합성이 필수인데 구성성분의 세포독성이 없어야 하며 숙주에 위해한 발열반응, 산방출 등이 적어야 하겠으며 더 나아가 세포의 이주, 부착, 분화, 성장 등의 일련의 과정에 방해가 되지 않고 조화를 이룰 수 있어야 한다. 그 이유는 치주치료의 궁극적 목표는 파괴되거나 손상된 치주조직의 완전한 재생을 얻는 것이며 이 과정은 매우 복잡한데 Pitaru 등에 의한 in vitro 실험결과는 섬유아세포 이주, 부착, 배열 과정이 치근면위에 신부착을 형성하는데 중요한 단계임을 보여 주고 있다. Cogen 역시 비록 세포의 부착이 신부착을 말하는 것이 아니더라도 섬유아세포가 부착할 기저부에 근접하여 위치하는 것이 결체조직 생성과 부착을 중개할 것이라고 기대하는 것은 가능하다고 하였다. 또한 Sommerman은 기저부에 대한 세포 부착은 세포의 증식, 이주, 분화, 재생 등의 적절한 세포기능을 위한 기초가 된다고 하였기 때문이다.

따라서 in vitro에서 섬유아세포의 수복물에 대한 부착여부를 연구하는 것이 수복과정에 사용되는 물질에 대한 치유 형태를 예견할 수 있을 것으로 보인다.

그러나 대부분의 연구는 현재 많이 사용되어지고 있는 아말감, 레진, 글래스아이오노머 수복물 등에 대한 세포독성 비교에 대한 보고가 대부분인데, Kan에 의하면 글래스아이오노머 수복물과 레진콤포지트가 비록 구성 성분 하나하나는 독성이 있지만 경화후 세포독성이 최소이며 레진강화형 글래스아이오노머 수복물이 가장 좋다고 하였다. Caughman 역시 같은 결과를 보고 하였으며 Bruce는 아말감과 레진의 세포독성에 대한 연구에서 모두 시간이 지날수록 세포독성은 감소하나 아말감이 더 강한 세포독성을 나타낸다고 하였다. Hany도 역시 레진강화형 글래스아이오노머 수복물, 레진, 아말감 순서로 세포독성이 적다고 보고하였다. 그러나 Rud는 오히려 아말감이 레진에 비해 조직적합성이 더 좋다고 하였다.

세포 부착에 영향을 줄 수 있는 다른 요인으로 표면거칠기를 들수 있다. 표면거칠기에 대한 연구는 주로 치태침착과의 관계를 알기 위한 연구가 대부분이며 Bollen, Quirynen 등은 표면에너지 보다 표면거칠기가 세균침착에 더 영향이 크고 세균침착의 표면거칠기 역치를 Ra=0.2㎛(Ra : average surface roughness)로 제시하였다.

이와는 대조적으로 표면거칠기와 세포부착 정도와의 관계에 대한 연구는 적은 편인데 Nishimura는 거칠고 불규칙한 치면에 대해 세포부착이 부드러운 면보다 더 많았음을 보고하면서 치근표면의 성질과 세포부착이 밀접히 연관됨을 제시하였다. Khatiblou는 활택된 면에 대해서는 상피로 치유되는 경향이 더 크다고 하였다.

위와 같이 현재까지는 수복물 물성 자체의 세포독성에 대한 연구만이 많이 진행되어져 왔고 실제 치유시 보일 수 있는 부착양상에 대한 관찰은 되어 있지 않은 상태이며 표면거칠기와 치유의 상관관계에 대한 연구도 미비한 상태이다.

이에 본 연구에서는 치은연하수복물로 주로 이용되는 아말감, 레진콤포지트, 레진강화형 글래스아이오노머 수복물과 활택된 상아질 표본을 조절군으로 하여 인체치은섬유아세포와 함께 배양한 후 부착된 세포수와 SEM 소견으로 생체적합성을 비교, 관찰하였고 각각의 표면거칠기를 측정하여 세포부착과 연관성이 있는지 검사하였다

II. 실험재료 및 방법

1. 실험군

1) 제1군 : 질환에 노출되지 않은 치근상아질
2) 제2군 : 광중합형 레진강화 글래스아이오노머 시멘트(GC Fuji II LC®)
3) 제3군 : 광중합형 콤포지트 레진(3M. Restorative Z100®)
4) 제4군 : 아말감(Cavex®. Holland)

2. 블록제작

1) 크기 : 3×3×2mm
2) 모든 시편은 소독된 상태에서 제작
3) 제작 및 멸균 과정

제1군 : 질환에 노출되지 않은 치근의 백악질을 제거한후 상아질편을 제작하고 큐렛(Gracey curette, Hu - Friedy co.)을 이용하여 단단하고 활택한 표면이 될 때까지 기구조작을 하였고 PBS로 세척후 gauze로 싸서 소독용 종이백에 넣어 250 270°F 온도에서 15분간 고압증기소독을 하였다.

제2군 : 제작자의 지시에 따라 분말과 액의 비율을 일정하게 하였으며 50초간 충분하게 광중합을 하였다. 그 후 자외선 소독을 20분간 시행하였다. 표면은 mylar strip을 이용하여 압력을 가한 후 중합을 한 상태로 더 이상의 연마과정은 생략하였다.

제3군 : 50초간 광중합을 하였고 자외선 소독을 20분간 시행하였다. 표면처리는 제2군과 동일하게 하였다.

제4군 : 아말감 혼합기에서 혼합후 silicone mold에 넣어 응축, 연마 후 잔여수은을 코튼으로 닦아내었으며 자외선 소독을 20분간 시행하였다.

3. 인체치은섬유아세포배양

인체치은섬유아세포를 얻어 세포배양 접시에 부착시키고 1% penicillin, streptomycin이 함유된 antibacterial solution(Gibco®. USA), 10% FBS(Gibco®. USA), DMEM(Gibco®. USA)를 배지로 하여 3일 간격으로 배양액을 교환해주면서 단일층이 형성되면 분배를 하여 5계대까지 배양하여 실험에 사용하였다.

배양조건은 95% 습도, 37℃ 온도를 유지하고 95% 공기, 5% CO_2를 계속 공급하였다. 세포를 분리시킬때는 0.25% trypsin - EDTA 3㎖를 이용하였다.

4. 세포부착과정

제작된 블록의 성질이 변하기 전에 실험을 하기 위해 제작 즉시 24 microwell에 한천을 이용하여 부착시킨후 각 well당 세포를 농도가 1×10^5/㎖ 되게 주입하였다. 그 후 95% 습도,

Table 1. Experimental Groups

	Sample size		
	Cell counting	SEM	조도측정
제1군: 치근상아질	12	2	4
제2군: 레진강화글레스아이오노머	12	2	4
제3군: 광중합형레진	12	2	4
제4군: 아말감	12	2	4

a) NRD : Normal Root Dentin
b) R - M GIC : Resin - Modified Glass Ionomer cement
c) CR : Composite Resin
d) DA : Dental Amalgam

37℃, 95% 공기, 5% CO 조건에서 3일간 배양을 하였다.

5. 부착세포수 측정

3일간 배양후 PBS로 세척하여 부착이 되지 않은 세포를 제거하고 블록을 다른 microwell로 옮겨 0.25% trypsin - EDTA를 이용하여 부착된 세포를 제거하여 수세와 원심분리 과정을 거친 후 trypan blue로 염색하여 hemocytometer로 세포수를 측정한 후 평균값을 산출하여 ANOVA로 통계처리 하였고 multiple comparison을 하였다. 모든 실험은 반복 시행하였다.

6. SEM 관찰

세포의 부착여부와 부착시 모양을 표현하기 위한 방법으로 전자현미경적 관찰을 하였는데 세포부착과정을 거친 각 군당 2개의 블록을 PBS로 수세하여 비부착세포를 제거한 후 2.5% Glutaraldehyde에 1시간 고정후 25% 알코올에서 무수 알콜까지 단계적으로 탈수한 후 critical point dryer에서 완전 탈수 하였다. 다시 aluminum stub에 고정하고 고정된 표본을 gold coating하고 관찰하였다.

7. 조도측정

각 군당 4개의 절편을 제작하여 표면조도측정기인 Form Talysurf(Rand Tayler - Hobson, England)를 이용하여 표면조도를 측정하였다. Ra(average surface roughness)와 Rt(maximal peak - to - valley height)값을 측정하고 각 군의 평균값을 산출하여 ANOVA, multiple comparion으로 통계처리 하였으며 세포수와의 상관성은 Person correlatison을 통해 평가하였다.

III. 실험결과

1. 부착세포수

부착된 세포수의 측정결과 치근상아질, 레진강화형 글래스아이오노머 시멘트, 레진, 아말감 순으로 나타났다(Table 1). 조절군인 치근상아질에 대한 평균부착세포수는 16.7±4.41($\times 10^3$)로 레진의 8.13±3.63($\times 10^3$), 아말감의 0.72±3.33($\times 10^3$)에 비하여 통계적으로 유의성 있게 많았으나($P<0.05$) 레진강화형 글래스아이오노머시멘트의 세포수는 14.0±4.15 ($\times 10^3$)으로 제1군보다 세포수는 적었으나 유의성은 보이지 않았다($P<0.05$).

수복물간의 차이를 보면 다른 군에 비해 제2군인 레진강화형 글래스아이오노머시멘트가 유의하게 많은 세포수를 보였다. 제4군인 아말감은 세포가 전혀 보이지 않거나 그 양이 매우 적었다.

2. Scanning Electron Microscopy Examination

Table 2. The number of attached cell($\times 10^3$)

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	Mean±SD
Teeth	20.8	9.6	23.2	9.6	18.8	12.8	19.6	19.2	14.4	16.8	20.4	15.6	16.7±4.41
RM - GI	8.8	9.6	11.6	18.4	13.2	18.8	14.4	19.6	8.8	10.4	16.0	18.4	14.0±4.15
Resin	4.4	5.2	9.2	5.6	4.0	9.2	8.8	4.8	9.6	8.0	16.0	12.8	8.13±3.63
Amalgam	0.8	0.8	0.8	0.8	0.4	0.8	0.8	0.0	0.8	1.2	1.2	0.4	0.72±3.33

Group 1,2,3,4 : See Table 1

Table 3. Multiple comparisons of attached cell number

	제1군	제2군	제3군	제4군
제1군			*	*
제2군			*	*
제3군	*	*		*
제4군	*	*	*	

*. The mean difference is significant at the 0.05 level

Group 1,2,3,4 : See Table 1

(1) 제1군(활택된 치근상아질)

치근표면의 형태는 다소 불규칙하지만 평활한 면을 나타내었으며 기구조작에 의한 도말층에 의해 표면이 덮혀 있어 상아세관 노출이 보이지 않았다. 세포의 모양은 성상세포들로 약간 오목하거나 편평한 모습을 보였고 완전히 납작하게 부착된 것도 있었는데, 많은 사상돌기, 피막돌기, 세포돌기 등을 내면서 치근표면이나 다른 세포와 부착되어 있었다. 세포표면에서는 많은 표면돌기가 관찰되었다.

(2) 제2군(레진강화형 글래스아이오노머 시멘트)

제1군에 비해 사상돌기나 미세융모 등은 적었으나 세포질 연장은 많았으며 방추형의 편평한 모습으로 부착되는 모습이 관찰되었다.

(3) 제3군(레진)

사상돌기의 수가 적고 세포돌기도 짧고 소수만이 나타났다. 세포의 모습은 납작하고 길게 보이는 것이 많았다.

(4) 제4군(아말감)

세포부착을 관찰하지 못하였으며 매우 거친 표면만을 볼 수 있었다.

Table 4. The value of mean surface roughness

	Mean surface roughness	
	Ra(㎛)	Rt(㎛)
제1군(치근상아질)	0.6972±0.104	5.233±1.673
제2군(RM-GI)	0.0822±0.009	0.798±0.106
제3군(Resin)	0.0875±0.005	0.999±0.145
제4군(Amalgam)	4.2145±0.985	32.29±7.772

Group 1,2,3,4 : See Table 1

Table 5. Multiple comparison of surface roughness(Ra, Rt)

	제1군	제2군	제3군	제4군
제1군				*
제2군				*
제3군				*
제4군	*	*	*	

*. The mean difference is significant at the 0.05

3. 표면조도와 부착세포수와의 관계

표면거칠기는 Ra(average surface roughness)와 Rt(maximal peak to valley height)를 측정하였으며(Table 3), Ra와 Rt는 약한 상관성을 보였다.(perason correlation : 0.676)

제1군은 Ra=0.69±0.10㎛, Rt=5.23±1.67㎛, 제2군은 Ra=0.08±0.009㎛, Rt=0.79±0.10㎛, 제3군은 Ra=0.08±0.005㎛, Rt=0.99±0.14㎛로 각 군간의 차이가 없었으며 제 4군인 아말감만이 Ra=4.21±0.98㎛, Rt=32.29±7.72㎛로 현저하게 거친 표면을 보였다.

부착세포수와 관계를 보았을 때 약한 역비례 관계를 보였는데, Ra와의 pearson correlation은 -0.593, Rt와의 pearson correlation은 -0.580이었다.

IV. 총괄 및 고찰

치주치료의 목표는 파괴되거나 손상된 치주

조직의 완전한 재생을 얻는 것이다. 이 과정은 매우 복잡한데, Pitaru 등에 의한 in vitro 실험 결과는 섬유아세포 이주, 부착, 배열 과정이 치근면위에 신부착을 형성하는데 중요한 단계임을 보여 주고 있다. Cogen 역시 비록 세포의 부착이 신부착을 말하는 것은 아니더라도 섬유아세포가 부착할 기저부에 근접하여 위치하는 것이 이러한 결체조직 생성과 부착을 중개할 것이라고 기대하는 것은 가능하다고 하였다. 이때 세포가 부착할 기저부에 대한 부착은 세포의 증식, 이주, 분화, 재생 등의 적절한 세포 기능을 위한 기초가 된다고 하였다 (Sommerman).

또한 치주조직 재생에 관한 초기 연구들은 치주인대세포가 필요하다고 하였고 Isidor, Aukhil 등은 치은섬유아세포는 치근 흡수를 일으킨다고 하였다. 치주인대세포와 치은섬유아세포의 차이에 대한 연구에서 Sommerman 등은 여러 세포부착 촉진 요소들에 대한 반응성이 다르며 Hou 등은 이 두 세포군은 기능적으로 이종의 세포군이라고 하였으나 Rompen은 부착하는 점에 있어서는 차이가 없다고 하였다.

치주치료 후 치유과정은 매우 복잡한데 판막이 위치되어지고 봉합되었을 때 조직은 기본적으로 물리적, 생리적으로 다른 면과 접촉하게 된다. 이 때 치근이나 치은, 치조골이 아닌 다양한 치과 수복물과 접촉하는 경우도 있다. 예를 들어 다양한 치은연하병소를 수복물로 치료한 후 치주판막을 그 위에 위치시키는 경우가 있을 수 있는데 이 때 수복물 주변 치주조직이 임상적으로 건강한 상태였다는 증례들이 보고 되어져 왔다. 이러한 임상적인 증례 보고가 유의성을 가지기 위해서는 in vitro 연구를 통해 임상에서의 상황을 예견할 수 있어야 하며 그 후 더 많은 표본에서 연구가 필요할 것으로 보인다.

따라서 본 실험에서는 in vitro 환경에서 수복물과 치은섬유아세포를 함께 배양한 후 세포부착여부를 통해 치은연하수복물상에 대한 결체조직부착의 가능성을 평가하려고 하였다. 실험은 인체치은섬유아세포를 이용했는데 이는 다른 화학적 매개물 등이 없는 실험조건에서 단지 부착여부만을 보았기 때문이며, 한편 본 연구의 목적인 수복물과의 관계를 알기 위한 면에서 볼 때 수복물의 위치가 치은섬유아세포와 더 빈번하게 근접하는 것으로 보였기 때문이었다.

수복물은 치근면과 같이 혈액공급이 되지 않을 뿐만 아니라 숙주조직이 아니기 때문에 세포부착에 대해서는 다른 중개요인 즉 생체적합성, 표면 젖음성, 표면형태, 구성 등이 고려되어져야 한다.

본 연구에서는 부착된 세포수를 통하여 생체적합성의 제1조건이 되는 세포독성을 평가하였고 표면형태는 거칠기를 평가하여 세포부착과의 관계를 보았다. 직접 표본상에서 세포 부착을 측정하는 것이 용출액에서 세포 생활력을 측정하는 것보다 생체적합성을 평가하는데 정확할 것으로 보인다.

세포의 부착은 여러요인의 영향을 받게 되는데 세포내 골격을 이루는 구조와 세포외 기질 성분, 세포가 부착될 기저층의 물리, 화학적 성질이 그것이다. 세포골격구조와 세포외기질 단백질 간의 상호관계가 세포 부착력을 조절하는 만큼 기저부의 성질도 조절력을 가진다. Aleo 등은 백악질에 결합된 독소가 섬유아세포의 성장을 방해하고 이러한 병적인 백악질을 제거한 후에 결체조직 부착 등이 보인다고 보고한 점에서 세포독성이 있는 환경에서는 세포의 부착, 성장이 나타나지 않을 것으로 보였고, 또한 섬유아세포의 경우 부착조건이 형성되지 않으면 골격구조를 상실하고 세포모양이 둥글게 되어 부착력이 약해 수세과정에서 제거될 것으로 기대되었기 때문에 부착세포수를 측정하여 생체적합성을 평가하였다.

본 실험에서는 블록 형성 즉시 세포를 주입하여 수복물 성분 효과를 되도록 보존한 상태에서 실험을 개시하였다. 그리고 중합시간을 충분

히 했는데 중합되지 않은 성분이 가장 세포에 유해하며(Caughman et al 1990) 중합시간은 임상에서 조절할 수 있는 요소이기 때문이었다.

블록을 형성할 때 레진과 레진강화형 글래스아이오노머 표면은 Mylar strip으로 압접한 상태에서 중합시켜 표면이 매우 매끄러웠고 부가적인 연마과정이 필요하지 않았다. 치근상아질의 거칠기는 Green, Rosenberg 등의 연구에 비하여 평활하게 나왔고 반면 아말감은 경화후에 연마를 해야 하는 이유로 임상에서처럼 연마과정을 하지 않아 매우 거친 표면이 보였다.

실험결과 치아, 레진강화형 글래스아이오노머, 레진, 아말감 순서로 부착세포수가 평가되었다. 치아와 레진강화형 글래스아이오노머 군간의 차이만 유의성이 없었고 다른 군 사이에는 유의성이 있었으며 특히 아말감과는 현저한 차이를 나타내었다($p<0.05$).

제1군 치근상아질에 대한 부착세포수는 이전의 보고와 유사하게 나타났다(Rompen 1993). 대부분의 in vitro 실험결과는 치근면 산처리가 세포부착을 향상시킨다고 했는데 치근면처리를 하지 않은 상아질에 대해서도 높은 친화력이 보고되기도 했다(Fardal 1990). 본 연구에서는 산처리 등에 의한 세포화학주성효과 등을 배제하기 위해 상아질 활택만을 하여 블록을 형성하였고 조절군으로 선택하였다.

제2군인 레진강화형 글래스아이오노머는 조절군과 비교하여 평균값은 적게 나왔으나 통계적으로 차이가 없었다($p<0.05$). Kan은 전통적인 글래스아이오노머는 레진과 비교하여 세포독성이 있고 Peltola, Bruce는 아말감에 비해서도 조직적합성이 떨어진다는 보고를 하고 있다. 레진강화형 글래스아이오노머는 글래스아이오노머의 성질을 향상시키기 위해 레진성분(HEMA)을 첨가한 것으로 이중경화구조와 향상된 물성, 최소의 세포독성이 보고 되어지고 있다(Kan, Hany - Anwar M, Caughman). Dragoo는 치은연하수복물의 이상적인 조건을 제시하였는데 생체적합성, 이중경화구조, 부착성, 불소방출, 방사선불투과성, 치밀성, 우수한 표면경도, 구강액에 대한 불용성, 미세누출이 없을 것, 낮은 열팽창계수, 적은 경화수축 등을 들었으며 현재 위 조건을 모두 만족시키는 재료는 없지만 레진강화형 글래스아이오노머가 가장 적합한 것으로 보인다고 보고하였다.

레진의 세포독성에 대한 보고는 각각의 구성성분은 세포에 유해하지만 경화된 후에는 최소가 된다고 하였다. 또한 레진을 이용하여 치근단충전을 한 후 레진 주변으로 신부착이 형성된 보고도 있었다. 그러나 여러 보고에서 레진강화형 글래스아이오노머와 비교하여 세포독성이 더 있음을 제시하고 있고 본 실험에서 충분한 경화시간을 주었지만 이중경화구조를 가진 레진강화형 글래스아이오노머가 더 이상적이라고 하겠다. 본 실험 결과에서도 이전의 보고와 일치된 결과를 보여 주고 있는데, 제1,2군 보다 통계적으로 유의하게 적은 세포수를 보였다. 그러나 레진에 대한 세포부착 또한 일어난다고 할 수 있었다.

아말감은 현저하게 적은 세포수를 보였는데 전혀 세포가 관찰되지 않은 표본도 있었다. 아말감이 이러한 차이를 나타내는 이유로는 첫째 본 실험에서 블록제작시 표면이 매우 거칠게 형성 되었기 때문인데, 즉 표면의 형태가 매우 불규칙하여 Brunette 등이 보고한대로 접촉유도(contact guidance) 상실이 나타나기 때문이다.

둘째, 성분자체의 세포독성을 고려할 수 있는데, Leirskar는 아말감 알로이 성분중 아연이 24시간 이내에 세포성장을 억제할만큼 용출된다고 하였다. 또 다른 연구들에서도 세포배양 24시간 후에 비교할 때 세포생활력 억제가 유의성 있게 높았다고 보고 하였다. 그러나 48, 72시간이 되면서 유의성이 없어졌다고 하였다. Peltola 등도 역시 아말감, 글래스아이오노머, 레진, 타이타늄 순서로 세포독성을 보인다고 하였으나 용출액을 뺀 각 군에서는 차이가 없다고 보고하였으며 대부분의 수복물이 시간이 지

날수록 세포독성이 감소된다고 하였다.

따라서 본 연구에서 비록 아말감에 대한 세포부착이 거의 없었지만 표면 거칠기를 조절해주고 in vivo 상황에서처럼 지속적으로 용출액이 제거되는 상황이라면 세포에 유해한 성분이 시간이 지날수록 감소되기 때문에 결과가 다를 수도 있을 것으로 사료된다.

표면조도와 세포부착과의 관계에 대해 Khatiblou는 치근에 1mm 깊이의 notch를 형성한 실험군과 대조군 사이 치유에 대한 임상연구결과 두 군 사이에 유의한 차이는 없었으나 이전 연구를 토대로 치근면이 활택할수록 상피로 치유되는 경향이 있다고 하였다. Nishimura 또한 치근표면이 거칠수록 세포 부착이 많다고 보고하였다. 본 실험결과 표면조도와 세포부착과의 관계는 약한 반대의 상관관계를 보였다. 이것은 아말감 표면이 매우 거친데 반해 부착세포수가 현저히 적었기 때문으로 보이며 각 군간의 조도 차이가 너무 커서 표면조도와 세포부착과 어떤 관련성을 결론지을 수 없었다. 앞으로 세포부착을 위한 즉, 치주조직의 치유상태에 좋은 조건으로 작용할 수 있는 임계거칠기에 대한 연구가 필요할 것으로 보인다.

Pellen - Mussi 등의 연구는 섬유아세포의 모양과 세포의 생활력은 부착, 증식과 일치함을 보여주고 있는데 이에 본 연구에서는 전자현미경 소견을 통해 세포 부착여부와 모양을 보려고 하였다. 관찰 결과 세포부착이 보인 제1, 2, 3군에서 부착기구 발현 정도가 다소 다르게 나타났다. 치근상아질, 레진강화형 글래스아이오노머, 레진 순서로 부착기구가 많이 나타났으며 레진에 대해서는 다소 부착력이 약해 보이는 것처럼 보여 세포수 측정 결과와 일치된 결과를 제시해 주었다.

결론적으로 본 연구결과 치은연하수복물이나 치은과 근접하게 되는 수복물로는 레진이나 아말감 보다는 레진강화형 글래스아이오노머가 가장 적절할 것으로 보이며 또한 세포부착과 재생이 수복물 위로도 가능하다면 치관연장술을 대체할 수 있을 것으로 사료된다. 표면거칠기와의 관계는 아말감의 거칠기가 현저하여 세포부착의 임계거칠기에 대해 결론을 도출하기에 무리가 있었으며 앞으로 이 부분에 대한 연구가 필요할 것으로 보인다.

또한 조직의 치유는 부착단백질의 흡착과 혈병형성이 선행되기 때문에 in vivo 상에서 이 부분에 대한 관찰이 필요할 것으로 보이며 실제 임상에 적용한 후 조직학적으로 부착의 진정한 형태를 관찰하는 연구가 더 필요할 것으로 보인다.

V. 결론

최근 치은연하 수복물로 많이 사용되고 있는 레진강화 글레스아이오노머, 레진, 아말감과 조절군을 치근상아질로 하여 조직 반응을 알기 위한 방법으로 인체치은섬유아세포와 함께 배양하여 수복물상에서 세포부착 정도와 양상에 대해 실험한 결과 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 치아, 레진강화형 글래스아이오노머, 레진, 아말감 순서로 세포가 부착하였고 치아와 글래스아이오노머 사이에만 유의한 차이를 보이지 않았다($p<0.05$). 또한 아말감에는 세포부착이 보이지 않은 표본도 있었다.
2. 부착양상에 대한 전자현미경 소견은 부착된 세포들의 모습이 치근과 레진강화 글래스아이오노머는 비슷하였고, 레진은 세포부착은 보였으나 결합기구의 발현이 적었다.
3. 표면거칠기 검사시 치아, 글래스아이오노머, 레진 사이에는 유의한 차이가 나타나지 않았고($p<0.05$) 아말감이 현저히 거친 표면을 나타내었다.
4. 세포부착과 표면거칠기 관계는 약한 역비례관계를 보였다. 이것은 아말감의

표면이 매우 거친데 반해 세포부착이 보이지 않았기 때문으로 이것은 급작스러운 표면변화로 인한 세포의 접촉유도 상실때문으로 보인다.

이상의 연구결과 치은연하수복물이나 치은과 근접하게 되는 수복물로는 레진강화형 글래스아이오노머가 가장 적절할 것으로 보이며, 표면거칠기와의 관계는 각군의 표면조도 차이가 현저하여 세포부착의 임계거칠기에 대해 결론을 도출하기에 무리가 있었으며 앞으로 이 부분에 대한 연구가 필요할 것으로 보인다.

VI. 참고문헌

1. Payne, J.M., Cobb, C.M., Rapley, J.W., Killoy, W.J., and Spencer, P. : Migration of human gingival fibroblasts over guided tissue regeneration barrier materials. J. Periodontol., 67 : 236 - 244, 1996.
2. Harris, R.J. : Treatment of an endodontic perforation with a restoration and a root coverage gingival graft. J. Periodontol., 66 : 646 - 652, 1995.
3. Goon, W.Y., and Lundergan, W.P. : Redemption of a perforated furcation with a multidisciplinary treatment approach. J. Endod., 11 : 576 - 579, 1995.
4. Dumfahrt, H., and Moschn, I. : A new approach in restorative treatment of external root resorption. A case report. J. Periodontol. 69 : 941 - 947, 1998.
5. Andreasen, J.O., Munksgaard, E.C., Fredebo, L., and Rud, J. : Periodontal tissue regeneration including cemento - genesis adjacent to dentin - bonded ret - rograde composite fillings in humans. J. Endod., 3 : 151 - 153, 1993
6. Dragoo, M.R. : Resin - ionomer and hybrid - ionomer cements : part II. Human clinical and histologic wound healing responses in specific periodontal lesion. Int. J. Periodont. Rest. Dent., 17 : 75 - 87, 1997.
7. Dragoo, M.R. : Resin - ionomer and hybrid - ionomer cements : part I. com - parison of three materials for the treat - ment of subgingival root lesions. Int. J. Periodont. Rest. Dent., 16 : 595 - 601, 1996.
8. Anderegg, C.R. The treatment of class III maxillary furcations using a resin - ionomer. a case report. J. Periodontol., 69 : 948 - 950, 1998.
9. Pitaru, S., Gray, A., Aubin, J.E., and Melcher, A.H. : The influence of the morphological and chemical nature of dental surfaces on the migration, attach - ment , and orientation of human gingival fibroblasts in vitro. J. Period. Res., 19 : 408 - 418, 1984
10. Cogen, R.B., Al - Joburi, W., Gantt, D.G., and Denys, F.R. : Effect of various root surface treatments on the attach - ment and growth of human gingival fibroblasts : histologic and scanning electron microscopic evaluation. J. Clin. Periodontol., 11 : 531 - 539, 1984.
11. Somerman, M.J., Foster, R.A., Imm, G.M., Sauk, J.J., and Archer, S.Y. : Periodontal ligament cells ning ingival fibroblasts respond differently to nttachment factors in vitro. J. Periodontol., 60 : 73 - 77, 1989.
12. Pellen - Mussi, P., Fravalo, P., Guigand, M., Bonnaure - Mallet, M. : Evaluation of cellular proliferation on

collagenous membranes. J. Biomed. Mater. Res., 36 : 331 - 336, 1997.
13. Kan, K.C., Messer, L.B., and Messer, H.H. : Variability in cytotoxicity and Fluoride release of resin - modified glass - ionomer cements. J. Dent. Res., 76 : 1502 - 1507, 1997.
14. Caughman, W.F., Caughman, G.B., Dominy, W.T., and Schuster, G.S. : Glass ionomer and composite resin cements : effects on oral cells. J. Prosthet. Dent., 63 : 513 - 521, 1990.
15. Bruce, G.R., McDonald, N.J., and Sydiskis, R.J. : Cytotoxicity of retrofill materials. J. Endod., 19 : 288 - 292, 1993.
16. Makkawy, H.M., Koka, S., Lavin, M.T., and Ewoldsen, N.O. : Cytotyoxicity of root perforation repair materials. J. Endodotics., 24 : 477 - 479, 1998.
17. Bollen, M.L., Lambrechts, P., and Quirynen, M. : Comparison of surface roughness of oral hard materials to the threshold surface roughness for bacter - ial plaque retention : A review of the lit - erature. Dent. Mater., 13 : 258 - 269, 1997.
18. Quirynen, M., and Bollen, C.M.L. : The influence of surface roughness and surface - free energy on supra - and subgingival plaque formation in man. A review of the literature. J. Clin. Periodontol., 22 : 1 - 14, 1995.
19. Nishimura, K., Takada, K., and Yamaoka, A. : In vitro interaction between gingival fibroblasts and various root surfaces. J. Electron. Microsc., 38 : 24 - 33, 1989.
20. Khatiblou, F.A., and Ghodss, A. : Root surface smoothness or roughness in periodontal treatment. : A clinical study. J. Periodontol., 54 : 365 - 367, 1983.
21. Hou, L.T., and Yaeer, J.A. : Cloning and characterization of human gingival and periodontal ligament fibroblasts. J. Periodontol., 64 : 1209 - 1218, 1993.
22. Mariotti, A., and Cchran, D.L. : Characterization of fibroblasts derived from human periodontal ligament and gingiva. J. Periodontol., 61 : 103 - 111, 1990.
23. Rompen, E.H., Nusgens, K.B., and Lapiere, C.M. :Kinetic aspects of gingival

and periodontal ligament fibroblast attachment to surface - conditioned dentin. J. Dent. Res., 72 : 607 - 612, 1993.
24. Raulin, L.A., McPherson, J.C., McQuade, M.J., and Hanson, B.S. : The effect of nicotine on the attachment of human fibroblasts to glass and human root surfaces in vitro. J. Periodontol., 59 : 25 - 31, 1988.
25. Geurtsen, W., Lehmann, F., Spahl, W., and Leyhausen, G. : Cytotoxicity of 35 dental resin composite monomers/additives in permanent 3T3 and three human primary fibroblast cultures. J. Biomed. Mater. Res., 41 : 474 - 480, 1998.
26. Peltola, M., Salo, T., and Oikarinen, K. : Toxic effects of various retrograde root filling materials on gingival fibroblasts and rat sarcoma cells. Endod. Dent. Traumatol., 8 : 120 - 124, 1992
27. Saltzman, W.M., Parsons - Wingerter, P., Leong, K.W., and Lin, S. : Fibroblast and hepatocyte behavior on synthetic polymer surfaces. J. Biomedical Materials Research., 25 : 741 - 759, 1991.
28. Brunette, D.M. : The effects of implant surface topography on the behavior of cells. Int. J. Oral. Maxillofac. Implants., 3 : 231 - 246, 1988.
29. Kaga, M., Seale, N.S., Hanawa, T., Ferracane, J.L., Waite, D.E., and Okabe, T. : Cytotoxicity of amalgams, alloys and their elements and phases. Dent. Mater., 7 : 68 - 72, 1991.
30. Kaga, M., Seale, N.S., Hanawa, T., Ferracane, J.L., and Okabe, T. : Cytotoxicity of amalgams. J. Dent. Res., 67 : 1221 - 1224, 1988.
31. Shay, J.W., and Wakler, C. : Introduction to cells in culture as studied by SEM. In : Bell PB, ed. Scanning Electron Microscopy of cells in culture., : 1 - 8, 1984.
32. Leknes, K.N. : The influence of anatomic and iatrogenic root surface characteristics on bacterial colonization and periodontal destruction : A review. J. Periodontol., 68 : 507 - 516, 1997.
33. Peumans, M., Van Meerbeek, B., Lambrechts, P., Vanherle, G., and Quirynen, M. : The influence of direct composite additions for the correction of tooth form and/or position on periodontal health. A retrospective study. J. Periodontol., 69 : 422 - 427, 1998.
34. Wikesj, U.M., Crigger, M., Nilvus, R., and Selvig, K.A. : Early healing events at the dentin connective tissue interface. light and transmission electron microscopy observations. J. Periodontol., 62 : 5 - 14. 1991.
35. Fardal, O., and Lowenberg, B.F. : A quantitative analysis of the migration, attachment, and orientation of human gingival fibroblasts to human dental root surfaces in vitro. J. Periodontol., 61 : 529 - 535.1990
36. Wirthlin, M.R., and Hancock, E.B. : Biologic preparation of diseased root surfaces. J. Periodontol., 51 : 291 - 297, 1980.
37. Sunzel, B., Sderberg, T.A., Johansson, A., Hallmans, G., and Gref, R. : The protective effect of zinc on rosin and resin acid toxicity in human polymorphonuclear leukocytes and

사진부도

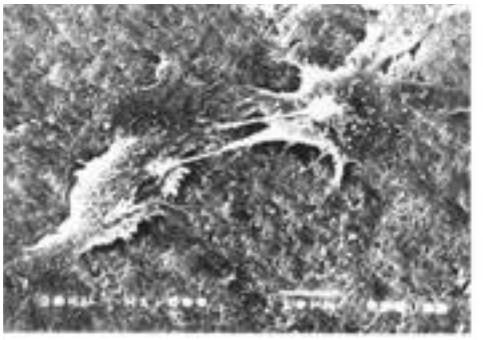

Figure 1

Figure 2

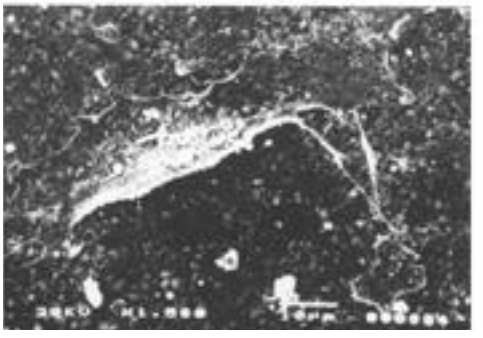

Figure 3

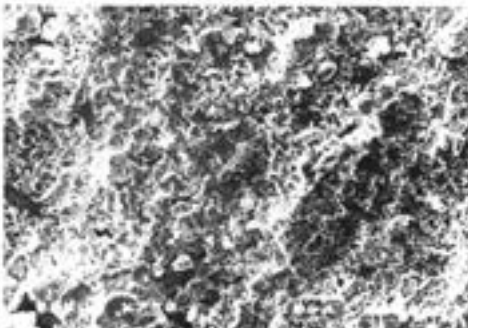

Figure 4

human gingival fibroblasts in vitro. J. Biomed. Mater. Res., 37 : 20 - 28, 1997.
38. Breault, L.G., Schuster, G.S., Billman, M.A., Hanson, B.S., Kudryk, V.L., Pashley, D.H., Runner, R.R., and McPherson, J.C. : The effects of intracanal medicaments, fillers, and sealers on the attachment of human gingival fibroblasts to and exposed dentin surface free of a smear layer. J. Periodontol., 66 : 545 - 551, 1995.

사진부도 설명

Figure 1. Control root dentin specimen(SEM ×1,500)

Surface was covered by smear layer, therefore, showed a relatively irregular topography. Cell morphology was stellate, flat with the many surface bleb, filopodia, lamellopodia, and attached to root surface, adjacent cells intimately. Some cells are extremely flat.

Figure 2. Resin modified glass ionomer specimen(SEM ×1,500)

Surface of specimen was very smooth appearance. Cells were spindle, flat shape and exhibited the attachment apparatus. Relatively firm attachment was examined.

Figure 3. Resin specimen(SEM ×1,500)

Cells showed a relative few attachment apparatus than root dentin, resin modified glass ionomer specimens, and cell shape was somewhat round, long.

Figure 4. Amalgam specimen(SEM ×750)

Attched cell was not observed. Only considerable rough surface was seen.

- Abstract -

Attachment of Human Gingival Fibroblast to Various Subgingival Restorations : A Comparative Study in Vitro

Eun - Suk Lee, In - Taeck Song, Jeong - Su Lim, Hyung - Seop Kim
Department of Periodontology and Research Institute of Oral Bio - Science, College of Dentistry, Chonbuk National University

When mucoperiosteal flaps are positioned and sutured to desirable position, the wound contains several interface between tissues which differ fundamentally in composition & biological reaction. Thus the C - T surface of the flap will, on one hand, oppose another vascularized surface, and on the other, the avascular dental material for example, when root resoptions, fractured root, endodontic perforation, deep root carious lesions were filled with amalgam, glass ionomer, resin etc.

Recently, a number of case report described the successful treatment of a subgingival root lesion with restorative material & free gingival graft, open flap surgery, but more objective research was needed.

Most of study on restorative materials were concerned for cytotoxicity not for actual healing event on that materials and its influencing factors such as biocompatibility, surface wettability, surface topography.

The aim of this in vitro study was to evaluate the effect of amalgam, resin modified glass ionomer, composite resin per se, and their surface roughness on the growth of human gingival fibroblast.

The cells were obtained and placed on culture flask and incubated for 3 days with the prepared test materials. Then count the attached cell number with hemocytometer,(n=12) and 2 samples were examined with SEM about attachment cell morphology.

Another 4 samples were evaluated on their surface roughness with Talysurf and average surface roughness value(Ra) were obtained.

Statistical difference in attached cell number, roughness value were analyzed using ANOVA.

The number of attached cell was as follows, for root dentin specimen 16.7±4.41, resin modified glass ionomer 14.0±4.15, resin 8.13±3.63, amalgam 0.72±3.33($\times 10^3$). Between root dentin and resin - modified glass ionomer, no significant difference was observed, but resin, amalgam showed a significant less cell numbers than for root dentin, resin modified glass ionomer cement.

SEM examination expressed many cell surface attachment apparatus in root dentin and resin modified glass ionomer specimens. For resin specimen, cell attachment was observed but exposed less appratus.

The average surface roughness value are following results. Dentin specimen 0.6972± 0.104, resin modified glass ionomer 0.0822

±0.009, resin 0.0875±0.005, amalgam 4.2145±0.985(㎛). Between root dentin, resin-modified glass ionomer, and resin, no significant difference was observed, but amalgam showed a significant more rough surface than other groups.

When evlauated the interrelationship between cell attachment and surface roughness, therefore, there was weak reverse correlation.(pearson correlation : -0.593)

These results suggest that resin modified glass ionomer have the favorable healing potential when used for subgingival restoration. And for relationship between cell attachment and surface characteristics, further investigations were needed.