

치수절단 후 Aucubin이 잔존치수조직에 미치는 영향에 관한 연구

백승호 · 이승우*

서울대학교 치과대학 치과보존학교실, 구강내과 · 진단학교실*

ABSTRACT

A STUDY OF THE EFFECTS OF AUCUBIN ON THE PULP TISSUE AFTER PULPOTOMY IN DOGS

Seung-Ho Baek, Sung-Woo Lee*

Dept. of Conservative Dentistry, Dept. of Oral Medicine and Oral Diagnosis*,
College of Dentistry, Seoul National University

Aucubin, an iridoid glucoside isolated from *Aucuba japonica*, has pharmacological effects such as antimicrobial effect, liver protective function and inhibition of liver RNA and protein biosynthesis, etc. This study was performed to observe the effect of aucubin on the pulp tissue after pulpotomy. Aucubin was converted to aucubinogenin as an active form by β -glucosidase. In 3 Mongrel dogs, the pulps were mechanically exposed with a sterile round bur and excised with sterile excavator. After bleeding control, aucubin was applied on remaining pulp tissues and then they were sealed with IRM in experimental group. In control group, Ca(OH)₂ powder was applied on remaining pulp tissues and then they were sealed with IRM. After interval of 1 and 12 weeks, the dogs were sacrificed. The teeth were prepared for histologic evaluation and examined by light microscope. Aucubin 1 week group showed that mild inflammation and vascular congestion in most of the specimen. More various degree of inflammation was found in experimental group than in control group. Premature calcified mass were found in the both 1 weeks groups. Continuous well-formed dentin bridge was found in both 12 weeks groups. Collectively, this study suggests that the possibility of aucubin as a medicament after pulpotomy.

Key words : Aucubin, Iridoid glucoside, Antibacterial effect, Pulpotomy, Dentin bridge

I. 서 론

aucubin은 차전자(*Plantago astica*), 식나무(*Aucuba japonica*) 등의 잎에서 분리 추출할 수 있는 iridoid glucoside계의 천연물로서 cyclopenta pyran monoterpenoid의 화학 구조를 가지고 있으며 민간요법이나 전통 중국 한방에서 사용되고 있다¹⁾. 현재 300여종이 넘는 iridoid가 분리 추출되고 있으며, 그 약리작용을 살펴보면 항균작용²⁾, CCL4와 galactosamine과 같은 독성 물질로부터 간 독성

방어작용³⁻⁶⁾, alpha amanitin mushroom에 대한 해독작용⁷⁾, RNA 생합성 억제⁸⁾, 담즙 분비 작용¹⁰⁾ 그리고 혈압강화 작용¹¹⁾등 매우 광범위한 것으로 보고되고 있다. 또한 aucubin은 prostaglandin의 합성 중간체로도 알려져 있으며, 독성 및 약 역학에 관한 연구도 일부 보고되고 있다¹²⁻¹⁵⁾.

구강 내에 상주하는 미생물들로 인하여 치아 우식증, 치주 질환, 근관내 감염, 치근단 질환, 악안면 부위의 감염등 수많은 감염성 질환이 야기되고 있어 많은 항균약제가 사용되고 있다. aucubin의 항균작용에 관한 보고는 일부 특정 세

본 연구는 한국과학재단 목적기초연구(96-2-16-03-01-3)지원으로 수행되었음.

균들 뿐 아니라³⁾, 구강에서 분리된 세균에 대해서도 보고된 바 있다. 구강 내의 병원성 균주 중에서 치아 우식증, 폴수염, 치은염 등의 원인 균으로 *Staphylococcus aureus*(*S. aureus*)와 혐기성 세균으로 치아우식증과 감염성 치근내막증을 일으키는 *Streptococcus mutans*(*S. mutans*)에 대한 aucubin의 항균효과가 chlorhexidine과 비슷한 항균효과를 보이는 것으로 보고된 바 있고, aucubin이 타액내 구강 상주 세균인 *S. mutans*, *S. aureus*, *Candida albicans*의 수를 감소시키는 것으로 보고하였다¹⁰⁾.

치수절단술에 사용되는 약제로써 오랜 기간 동안 formocresol과 수산화칼슘 제재가 사용되어져 왔다. formocresol은 일반적으로 치수조직을 표면적으로 고정시키고, 그 밑으로 석회화를 일으켜 치수의 생활력을 유지할 수 있다고 하였으나¹¹⁾, 그 독성이 크고 발암성 물질로 사용이 제한되었고, 현재 수산화칼슘 제재가 1930년대 Hermann이 소개한 이후 가장 많이 사용되고 있으나¹²⁾ 임상적으로 그 성공률이 낮아 시술이 제한되고 있는 실정이다¹³⁾. 그러나 적응증을 잘 선택하여 시술한다면 성공적인 치료결과를 얻을 수 있는 치료술식이며, 치수절단술 후 성공적인 치료결과를 얻기 위해서는 잔존치수조직의 치유에 도움을 주면서 지속적인 무균상태를 지속시켜줄 수 있는 약제가 필요하다. 따라서 안전하고 효과적인 항균물질인 aucubin은 구강내 감염성 질환의 예방이나 치료 혹은 살균제로 그 항균범위가 넓은 것으로 예상되며, 일반적으로 치수절단술에 사용되는 강알칼리성인 수산화칼슘 제재를 대체할 수 있거나 그 약효를 더해 줄 수 있는 첨가제로서의 가능성도 생각할 수 있다.

본 연구는 식나무 잎에서 추출한 aucubin을 가건에서 치수절단부 위에 도포한 후 일어나는 잔존치수조직의 반응과 통법의 치수절단술 후 사용되는 수산화칼슘을 도포한 경우의 조직반응을 관찰하여, aucubin이 치수조직에 미치는 영향을 비교 관찰함으로써 향후 임상적으로 사용 가능한 신약 개발에 필요한 기초 자료를 얻기 위하여 시행하였다.

II. 실험재료 및 방법

1. 실험재료

식나무(*Aucuba japonica*)의 잎에서 Trim¹⁴⁾ 등의 방법을 응용한 장¹⁵⁾ 등의 방법을 사용하여 분리한 순수 정제된 분말 형태의 aucubin을 천연물 과학연구소에서 공급받았다. 제공받은 aucubin을 활성 형태인 aucubigenin으로 전환시키기 위하여 aucubin과 β -glucosidase를 0.1M sodium acetate 완충액(pH 5.0)에 첨가하여 37°C에서 2시간 동안 반응시켰다. 이 과정에서 aucubin이 aucubigenin형태로 효소 분해되었다.

2. 실험방법

체중 10 - 14kg인 성견 3마리의 상하악 전치, 견치와 소구치 24개를 실험부위로 사용하였다. 각 실험동물은 대퇴부에 Ketamine HCL(10mg/kg, Ketelar, 유한)을 근육주사하여 진신마취를 하였다. 실험대상의 치아는 3% 과산화수소 용액으로 소독하고 격리시킨 후, 협면에서 소독된 No. 6round bur로 치수 강을 개방하였고, 소독된 예리한 spoon excavator로 치관부 치수강 내의 치수를 절단하였다. 노출된 치수를 5.25%의 NaOCl 용액으로 지혈 및 소독을 1분 이내에 시행하였고, 생리식염수로 치수강내를 세척하였다.

대조군에서는 잔존치수조직 위에 수산화칼슘 분말을 도포한 후 와동용 IRM으로 밀봉하였다. 실험군에서는 잔존치수조직 위에 aucubin을 함유한 분말을 도포한 후에 IRM으로 밀봉하였다. 각 군을 6개 치아씩 무작위로 선택하여 실험동물을 희생시키기 전 12주전과 1주전에 각기 치수절단술을 하여 1주군과 12주군의 표본을 얻었다.

실험동물을 희생시켜 10% neutralized buffered formalin에 고정시킨 후 일부 TCA용액으로 탈회한 후 paraffin에 포매하여 5 μ m 두께로 연속 절단하고 H&E염색하여 조직학적 변화를 광학현미경으로 관찰하고, 나머지는 Dorath와 Breuner²¹⁾에 의해 기술된 방법으로 에탄올로 탈수시킨 후 레진(Technovit 7200, Kulzer, Germany)으로 포매하여 Exact grinding system(Kulzer, Germany)으로 20 μ m까지 단계적으로 연마한 비탈회표본을 만들어 관찰하였다. 각 표본에서 혈관확장, 충혈, 울혈, 출혈, 염증세포의 침윤, 수복상아질의 형성 및 치수조직의 괴사 등을 관찰하였고, 12주군에서는 dentin bridge의 형성여부를 관찰하였다.

III. 실험 결과

1. 대조군

수산화칼슘을 도포한 1주군에서는 다양한 정도의 염증반응이 관찰되었고 절단된 치수조직표면과 수산화칼슘이 접촉된 부위는 coagulation necrosis층이 상당량 형성되어 있고, 그 아래 부분에 만성염증세포가 침윤된 양상을 보이거나 혈관확장 및 혈관내 적혈구의 충혈을 보이는 예도 있으며 미세농양이 보이는 예까지 다양하게 관찰되었다. 잘 형성된 dentin bridge의 형성은 관찰할 수 없었고, 부분적으로 predentin과 같은 경조직이 관찰되었다. 12주군에서는 6례 중 4례에서 잘 형성된 dentin bridge가 관찰되었다. bridge의 상부는 osteodentin 또는 irregular dentin, 하부에는 predentin과 dentin으로 구성되어있었고 조상아세포

의 배열이 관찰되었다. 그러나 부분적인 만성 염증상태인 경우도 관찰되었다.

2. 실험군

Aucubin을 도포한 1주군에서도 다양한 정도의 염증반응이 관찰되었다. aucubin과 접촉된 치수조직표면은 대조군과 마찬가지로 coagulation necrosis층이 관찰되었으며, 아주 경미한 염증반응을 보이는 경우에서 박테리아에 감염되어 심한 염증과 농양이 있는 예까지 다양하게 관찰되었다. 염증세포는 염증초기 중성구뿐 아니라 임파구 등도 많이 발견되었으며, 부분적인 혈관확장과 충혈 및 장애성 삼출액의 흔적도 관찰할 수 있었다. 12주군에서는 6례 중 3례에서 잘 형성된 dentin bridge가 관찰되었고, 1례에서는 치수가 완전히 괴사되었고 나머지 예에서는 대조군과 비슷한 조직학적 소견이 관찰되었다.

IV. 총괄 및 고안

치의학 분야에서의 항균제는 그 활용도가 높아 치아우식증, 치주질환, 악안면 부위의 감염 등에 대한 예방 및 치료, 근관치료시 세척 및 근관소독제, 외동의 소독, 구강 점막 감염증의 치료 및 예방 등 그 적용범위가 광범위할 것이다. 최근 동양의학에서 사용되는 생약제들은 과학적인 실험을 통하여 그 기전이 규명되어 서양의학과의 접목을 널리 시도하고 있으며, 본 실험에서 사용된 aucubin의 항균작용은 이미 밝혀진 바 있다. Aucubin은 aucubigenin으로 변화하였을 때 Gram negative bacteria인 *S. aureus*와 Gram positive bacteria인 *E. coli*에서 항균작용이 발현된다고 보고하였으며, 이러한 항균 효과의 기전은 RNA와 단백질합성을 방해하므로써 이루어진다고 보고되고 있다^{22,23}. 항균효과는 aucubin이 aglycone형인 aucubigenin으로 전환이 되어야하며, aucubigenin이 dialdehyde구조로 되었을 때 항균작용이 나타나는 활성화 형태가 된다고 생각된다. 손¹⁶⁾ 등의 실험에 의하면 구강내 미생물에 대한 항균효과를 조사한 결과 *S. aureus*, *S. mutants*, *Candida albicans*에 대하여 항균효과가 있으며, 0.1%의 aucubin이 chlorhexidine (0.1%)보다 항균효과가 우수한 것으로 보고하였다. 현재 0.1%와 0.2% 농도의 aucubib용액이 사용되고 있으며, 그 효과 차이가 크지 않다고 보고되어 본 실험에서 0.1%의 aucubin을 사용하였다. 이²⁴⁾ 등의 백서에서의 창상치유에 관한 연구에 의하면 aucubin은 창상치유에 효과적임을 보고하며 국소제제(ointment)로서의 유용성에 대한 가능성을 주장하였다.

치수절단 후 사용되는 약제로는 수산화칼슘, tricalcium phosphate, enzyme과 matrix components, glucos-

teroids, formaldehyde, glutaraldehyde, antibiotics, ZOE, composite resin등이 언급되고 있다. 이러한 약제사용의 근거는 microorganism을 제거하는데 있으며 Kakehashi²⁵⁾ 등의 실험에 의하면 무균상태의 쥐에서는 치수절단 후 약제를 쓰지 않아도 모든 경우에 dentin bridge가 형성되었고, 일반 쥐에서는 치수절단 후 와동개방을 한 경우 7일 후부터 치근단에 염증이 관찰되는 것을 보고한 바 있다. 대표적인 약제로써 항균작용이 있는 수산화칼슘이 주로 사용되고 있으나, 그 기전은 현재 명확히 알려져 있지 않고 수산화칼슘은 높은 알칼리상태(pH 11정도)를 유지하고, 접하는 잔존치수조직의 표면에 coagulation necrosis를 야기하여 dentin bridge를 유도하는 것으로 알려져 있다⁹⁾. 또한 Attalla와 Noujaim⁶⁾은 형성된 dentin bridge는 도포된 수산화칼슘이 아니라 전신적인 순환계에서 유래되는 것이라고 보고하였다. 따라서 치수절단 후 수산화칼슘을 적용한 치아에서는 약제의 소작효과가 치수 손상부에서 경조직 장벽을 형성하는데 기여한다고 생각된다. 치수절단 후 약제로는 치수조직을 완전히 파괴시킬 만큼 충분히 강하지 않으며 경조직형성을 유도하는데 충분한 자극제로 작용하게 된다고 볼 수 있다. 이에 aucubin은 효과적이고 안정적인 항균작용과 국소제제로서 창상치유에 효과적인 점에 착안하여 치수절단술 후 사용되는 약제로서의 실험에 적용하였다. Aucubin을 사용한 실험 1주군에서의 잔존치수조직의 반응은 염증세포의 침윤이 전혀 없는 경우에서부터 박테리아 감염과 심한 염증상태를 보이는 예까지 다양하였으나, 대체로 1례를 제외하고 수산화칼슘을 사용한 대조군과 비슷한 치수조직의 반응을 보여 전반적으로 약한 염증 반응을 보였다. 심한 감염과 염증반응을 보이는 경우는 실험당시의 심한 세균감염으로 인한 것으로 사료된다. 완전한 dentin bridge의 형성을 보이는 예는 없었으며 부분적인 석회화조직이 형성되는 것을 관찰할 수 있었다. Schroder와 Granath¹⁹⁾는 수산화칼슘 도포 후 잔존치수조직의 coagulation necrosis가 일어나고 4일 후 새로운 collagen 형성이 관찰되고 1주일 후 dentin bridge의 형성이 관찰된다고 보고하였다. 본 실험에서도 이와 비슷한 반응을 보였다고 할 수 있으나, Kuletova와 Svejda²⁷⁾의 1주일 후 염증을 관찰할 수 없다는 연구 결과와는 다소 차이를 보였다. Doyle¹⁷⁾ 등은 치수절단 후 수산화 칼슘을 도포한 경우 4주에서 7주 후 7례 중 4례에서 잘 형성된 dentin bridge층이 있고, 그 아래 잘 분화된 조상아세포층과 치수조직이 관찰되었고, 나머지 3례는 불완전한 dentin bridge와 염증상태가 관찰되었다고 보고하였다. 수산화칼슘을 사용한 본 실험 12주군에서는 잘 형성된 dentin bridge의 형성을 관찰할 수 있었으며, Doyle¹⁷⁾ 등의 연구 결과와 비슷하였다. aucubin을 사용한 12주 군에서도 dentin bridge의 형성을 관찰할 수 있었고, 이는 권²⁸⁾ 등이 aucubin을 치수절단 후 사용

하였을 경우 4주 후까지 dentin bridge를 형성하지 않았다는 실험 결과와는 다소 상이하다. Aucubin을 사용하였을 때도 수산화칼슘과 마찬가지로 소작효과가 있는 것으로 사료되며 권²⁹⁾ 등은 이러한 소작효과로 인해 수산화칼슘과 유사한 경조직 장벽 유도효과가 있을 가능성을 제시하였다. 일반적으로 aucubin 자체는 조직 내로의 침투 효과가 크지 않아 심부 조직에 영향을 미치지 않는다고 보고되며, 이로 인해 치수조직의 염증 정도가 대조군보다 비교적 적은 것으로 나타난 것으로 사료된다. Aucubin의 항균효과와 창상치유에 대한 효과는 치수절단술시 세균감염의 위험성이 높은 치수에서 좋은 결과를 가져다준 것으로 사료된다. 이러한 실험결과로 미루어 볼 때 aucubin은 치수절단술시 도포 약제로서 사용가능성을 확인할 수 있었으나, 치유과정의 기전과 실제 임상에서의 적용여부 등에 관한 추가적인 연구가 필요할 것으로 사료된다. 그 외 근관 내 약제로써의 가능성과 근관 내 세척제로서의 가능성에 대한 연구도 필요하리라 생각된다.

V. 결 론

저자는 항균작용, 간독성 방어작용, 리보핵산 생합성 억제 작용 등 다양한 약리 작용을 가진 iridoid compounds의 일종인 aucubin이 치수조직에 미치는 영향을 관찰하기 위하여, 식나무에서 추출한 aucubin에 β -glucosidase를 첨가하여 aucubigenin으로 환생시켜 사용하였다. 가견의 치아를 기계적으로 치수를 노출시킨 후 소독된 spoon excavator를 이용하여 치관부 치수를 절단하여 지혈된 치수 절단면에 실험군은 aucubin을, 대조군은 수산화칼슘을 도포한 후 IRM으로 와동을 밀봉하였다. 실험동물을 희생시켜 1주 후와 12주 후의 조직표본을 얻어 잔존치수조직의 변화를 광학현미경으로 관찰하여 평가한 결과, aucubin을 사용한 실험군에서 1주 후 잔존치수의 반응은 전반적으로 경미한 염증반응 및 혈관 충혈을 보였고, 실험군에서는 수산화칼슘을 사용한 대조군보다 다양한 정도의 염증반응이 관찰되었으며 dentin bridge형성은 1주 후 두 군 모두 불연속적인 구조로 초기 석회화 조직이 관찰되었고, 12주 후 연속적인 dentin bridge의 형성이 관찰되었다. 본 연구를 통해 aucubin의 치수절단 후 사용되는 약제로서의 가능성을 확인할 수 있었으며, dentin bridge의 형성기전에 대한 추가적인 연구가 필요하리라 생각된다.

참 고 문 헌

- 1 Chang I M and Yamauta Y Aucubin A new antidote for poisonous Amanita mushrooms Phytotherapy Res Vol 7 53-56 1973
- 2 Letica J El-Naggar and Jack L Beal Iridoids A review

- J Nat. Prod., 43: 649-705 1981
- 3 Ishiguro K, Yamaki M and Takagi S Studies on iridoid-related compounds II The structure and antimicrobial activity of aglucones of galioside and gardenoside J Nat. Prod., 46: 532-536, 1983
- 4 Inouye H, Takeda Y, Vobe K, Yamauchi K, Yabuuchi N, and Kuwano S Purgative activities of iridoid glucosides, Planta Medica, 25: 285-288, 1974
- 5 Hikino H, Kiso Y, Kubota M, Hatton M, and Namba T Antihepatotoxic Principles of Sweitia japonica Herbs, Shoyakugaku Zasshi, 38(4) : 359-360, 1984
- 6 Chang I M and Yun H S Plants with liver protective activities (II) Potential hepatotoxic activities of Plantago asiatica seed, Kor J Pharmacog., 9(3) 139-144, 1978
- 7 Ahn S O, Kim J H, and Chang I M Effects of iridoid compounds on RNA and protein biosynthesis in sarcoma 180 cells, Kor J. Pharmacog., 16(2) 99-104, 1985
- 8 Chang K S Pharmacology and toxicity of aucubin-Effects on DNA, RNA and protein biosynthesis in sarcoma 180 and acute toxicity, 서울대 졸업 논문집 1983
- 9 Park Y C Pharmacology of aucubin-Effects on DNA, RNA and protein biosynthesis 서울대 졸업 논문집 1981
- 10 Takeca S, Yuasa K, Endo T, and Aburada M Pharmacological studies on iridoid compounds. II Relationship between structures and choleretic actions of iridoid compounds J Pharm Dyn., 3: 485-492, 1980.
- 11 Takeda S and Aburada M Pharmacological studies on iridoid compounds II General pharmacological action of patuloside and its aglycone Shoyakugaku Zasshi, 34(3) 200-208, 1980
- 12 Benini C and Fabio R D Chiral intermediates aucubin as synthons of modified 11-methylprostaglandins. Assignment of correct structures to two tetrahydrodideoxyaucubins, J Org Chem, 47 1343-1345 1982
- 13 Chang I M, Chang K S, and Yun H S Toxicological Studies on aucubin (I), Acute toxicities and effects on blood serum enzymes, Kor J Pharmacog., 14(3) 95-100 1983.
- 14 Chang I M, Yun H S, and Yang K H Pharmacology and toxicology of aucubin, Yakhak Hoeji 28(1) 35-48, 1984
- 15 Suh N J, Shim C K, Lee M H, Kim S K and Chang I M Pharmacokinetic study of an iridoid glucoside Aucubin Pharmaceutical Res., 8(8) 1059-1063, 1991
- 16 손승우 이승우 타액내 미생물에 대한 Aucubin의 항균효과에 관한 연구 J Dental College Seoul National University, 19(1) 191-207, 1995
- 17 Doyle WA, McDonald RE, Mitchell DF Formocresol versus calcium hydroxide in pulpotomy J Dent Child 29: 86, 1962
- 18 M Cvek L Granath, P Cleaton-Jones, and J Autin Hard Tissue Barrier Formation in Pulpotomized Monkey Teeth capped with Cyanoacrylate or Calcium Hydroxide for 10 and 60 Minutes, J Dent Res 66(6) 1188-1174 1987
- 19 Schuder and Granath Early Reaction of Intact Human Teeth to Calcium Hydroxide Following Experimental Pulpotomy and Its Significance to the Development of Hard Tissue Barrier, Odont Revy 22 379-396, 1971
- 20 Tam A R and Hill R The preparation and properties of aucubin, asperuloside and some related glycosides. Etochem J, 50 310-319, 1952
- 21 Donath K Breuner GA A method for the study of undecalcified bone and teeth with attached soft tissue. The Saeger-Schliff technique J Oral Pathol 11 318-326 1982

- 22 Lee E. S., Ahn J. W., Mai W. C. and Chang I. M. Pharmacology of iridoid. Antimicrobial activities of aucubin, Proc. 2nd ROK-ROC Symposium on Natural Products Sciences held on Dec. 12-16, 1985, Seoul, Korea
- 23 Ishiguro K, Yama M, and Takagi S. Studies on the iridoid related compounds. I. On the antimicrobial activity of aucubigenin and certain iridoids aglycones. Yakugaku Zasshi, 102(8) 755-759, 1982.
- 24 이승우, 고희섭, 이상구. Iridoid 화합물이 창상치유에 미치는 영향. 대한구강내과학회지, 24(2) 137-143, 1999
- 25 Kakchashi S, Stanley HR, Fitzgerald R. The effects of surgical exposure of dental pulps in germ-free and conventional laboratory rats. Oral Surg 20 : 340, 1965
26. Attalla MN, Noujaim AA. Role of calcium hydroxide in the formation of reparative dentin. J Canad Dent A, 35 : 267, 1969
27. Kukletov M, Svejda J. Ultrastructure of blood vessels in damaged pulps. Bull Group Int Rech Sci Stomat 13 : 445, 1972
28. 권혁준, 박동성, 손호현. Iridoid 화합물이 치수절단 후 잔존치수 조직에 미치는 영향. 대한치과보존학회지, 22(2) 710-719, 1977.

사진부도 설명

- Fig. 1. Experimental group at 1 weeks after experiment. (H&E staining, $\times 100$)
Note the initiation of dentin bridge formation, dialation of blood vessels and congestion, but few inflammation cell infiltration.
- Fig. 2. Experimental group at 1 weeks after experiment. (H&E staining, $\times 400$)
Note the initiation of dentin bridge formation and proliferation of blood vessels.
- Fig. 3. Experimental group at 1 weeks after experiment. (H&E staining, $\times 100$)
Note few inflammation cell infiltration, but hemorrhage.
- Fig. 4. Experimental group at 1 weeks after experiment. (H&E staining, $\times 400$)
Note hemorrhage, infected and necrotic pulp tissue.
- Fig. 5. Experimental group at 1 weeks after experiment. (H&E staining, $\times 100$)
Almost normal pulp was observed at remaining pulp tissue.
- Fig. 6. Experimental group at 12 weeks after experiment. (Undecalcified section with toluidine blue, $\times 400$)
Continuous dentin bridge was formed. And almost normal pulp tissue below dentin bridge was observed.

사진부도



Fig. 1



Fig. 2



Fig. 3



Fig. 4

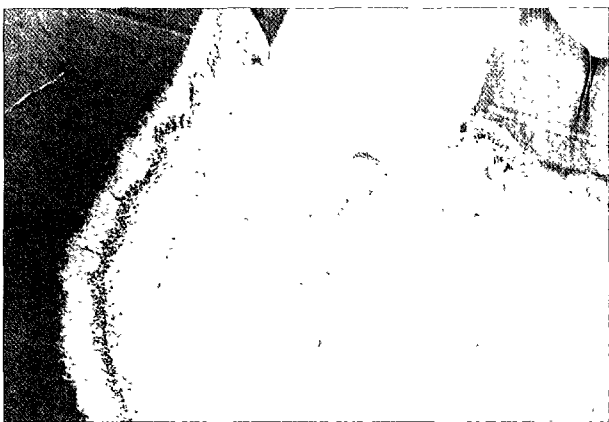


Fig. 5

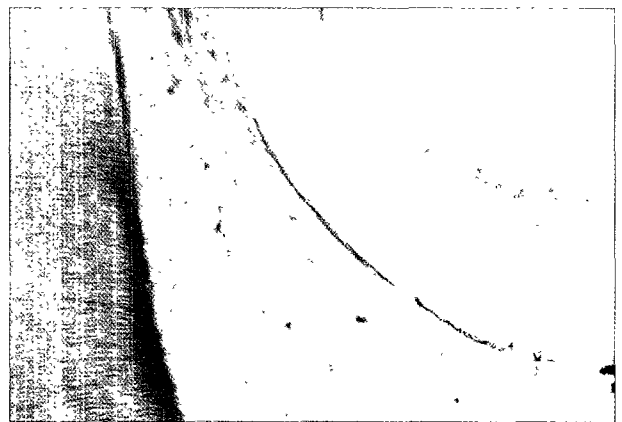


Fig. 6