

치수 절단술 약제의 치수 섬유모세포에 대한 세포독성 연구

이영희 · 이금호

경희대학교 치과대학 소아치과학교실

국문초록

유치의 치수 절단술에 이용되는 약제들(formaldehyde, formocresol, paraformaldehyde, ferric sulfate)이 농도 변화에 따라 치수 섬유모세포의 활성, 단백질 기질의 합성 및 무기질 침착에 미치는 영향을 규명하고자, 각각 0.01, 0.05, 0.10, 0.25, 0.50, 1.00 $\mu\text{l/ml}$ 의 농도로 사람의 치수 섬유모세포에 24시간 적용시킨 후 세포활성검사와 함께, 조직의 재생과정 중 유기기질이 되는 단백질의 합성능과 무기질 침착에 관여하는 알칼리성 인산효소의 활성에 미치는 영향을 완충액만을 투여한 대조군과 비교 평가한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다. 치수 절단술 약제를 첨가한 후 24시간 배양하였을 때, formaldehyde, formocresol, paraformaldehyde 등의 경우 약제 농도가 증가함에 따라 대조군에 비하여 치수 섬유모세포의 세포활성이 크게 저하되었으며, ferric sulfate를 이용한 경우에는 세포활성이 유지되거나 약간 촉진되었다. formaldehyde, formocresol, paraformaldehyde 사이의 세포활성간에는 유의성 있는 차이가 보여지지 않았다. 치수 절단술 약제 첨가 후 배양액내의 총단백질양에는 큰 변화가 없었으나, paraformaldehyde에 의해 총단백질양이 약간 감소하였다. 약제 첨가 후 세포내의 단백질양을 측정하였을 때, ferric sulfate의 경우, 약제의 농도가 증가하였을 때도 지속적으로 단백질 합성이 저해됨을 알 수 있었다. formaldehyde, formocresol, paraformaldehyde, ferric sulfate는 치수 섬유모세포의 알칼리성 인산효소 활성을 약간 저해하였다.

주요어 : 치수 절단술 약제, 세포독성, 치수 섬유모세포

I. 서 론

유치는 치수강의 크기가 크기 때문에 치아우식증이나 외상 및 기계적 손상 등에 의해 치관부 치수가 노출되기 쉽다. 치아우식증이나 외상으로 인해 치수가 노출된 경우 감염의 정도가 아주 심하지 않은 이상 다양한 치수치료에 의해 탈락시기까지 치열궁내에 치아를 계속 유지시킬 수 있다. 이러한 목적으로 시행되는 유치의 치수치료 방법 중 많이 시행되어지고 있는 치수 절단술은 치관부의 치수조직이 감염된 경우라도 치관부 치수조직의 생활력이 있다고 판단되거나 감염의 영향력을 받기는 했으나 일부의 생활력을 보존하고 있는 경우 진행할 수 있는 술식으로 치관부 치수조직의 생활력과 기능을 보존하는 것이 그 목적이다¹⁾.

치수 절단술에 사용된 여러 가지 약제 중 formocresol(Fc)은 그 자체의 독성이 매우 강한 약제임에도, 확실한 치수조직의 고정능력과 높은 임상적 성공률에 대한 평가로 아직까지 유치의

치수 절단술에 가장 널리 사용되고 있다²⁾. Formocresol은 1900년대 Buckley³⁾에 의해 개발된 이후 국소마취제의 개발과 더불어 치수 치료에 이용되기 시작했다. Sweet⁴⁾에 의해 유치의 치수 절단술에 이용되기 시작한 후 이에 대한 많은 연구들이 시행되었다. Garcia-Godoy⁵⁾는 formocresol 치수 절단술 시행 후 치관부의 mummification에 대한 방사선적 평가를 통해, Fuks 등⁶⁾은 원숭이의 유치와 영구치에 저농도와 고농도의 formocresol을 적용한 후 방사선학적, 조직학적 평가를 통해 우수한 임상적 성공률을 보고하였다. 그러나, Rolling 등⁷⁾과 Block 등⁸⁾은 formocresol을 이용한 치수 치료 후의 면역학적 반응에 대해, Pruhs 등⁹⁾은 유치의 formocresol 치수 절단술과 후속 영구치의 법랑질 결함에 대한 연구를 시행하였고, Myers 등¹⁰⁾도 치수 절단술 부위의 조직 변화와 국소적, 전신적 독성에 대한 연구를 보고하였다. Straffon 등¹¹⁾은 Buckley formula를 1 : 5로 희석된 농도를 사용한 결과, 원래 농도 적용시와 유사한 조직 고정효과를 관찰하였다고 하였으며, 전신적 위해 자극

이 현저히 감소되었음을 보고한 바 있다. 이 결과를 바탕으로 Loos 등¹²⁾은 Buckley formula를 1 : 5로 희석한 농도로 사용할 것을 권장하였으며 현재까지도 희석 농도가 임상에서 적용되고 있다. 농도를 희석시키며 약제의 독성을 감소시키려는 노력은 조직의 유해성을 감소시키면서 formocresol을 대체할 수 있는 약제의 개발을 위한 노력으로 이어졌다¹³⁾. Calcium hydroxide, glutaraldehyde, ferric sulfate의 이용 방법이 연구되었으며, 최근에는 조직의 재생을 유도할 수 있는 enriched collagen, freeze dried bone과 bone morphogenetic protein(BMP)을 이용한 동물실험이 진행되고 있다¹⁴⁾.

영구치의 치수절단술에 널리 사용되는 calcium hydroxide는 생체 친화력이 우수하고 전신적인 독성이 없는 재료임에도 불구하고 유치의 치수 절단술에 이용된 경우 치근의 내흡수가 빈번히 발생되어 임상적인 성공률이 저하되어 유치의 치수 절단술에는 많이 이용되지 않는다¹⁵⁾. Sun 등¹⁶⁾은 aldehyde 제제로서 formocresol을 대체할만한 약제로 연구된 glutaraldehyde는 조직학적 우수성을, Fuks 등¹⁷⁾은 임상적인 연구에서도 좋은 결과를 보고하였다. 그러나, 장기적인 관찰 결과 formocresol의 전신적인 흡수나 조직의 섬유화와 같은 위해작용을 완전히 해소하지 못하는 것으로 평가되었다^{18,19)}. 동일한 aldehyde 제재인 paraformaldehyde가 유럽의 일부에서 유치의 치수절단약제로 이용되고 있으며, 하루에 극히 소량의 formaldehyde만을 유리시키는 삼량체로 비교적 안전하게 치수 절단술에 이용될 수 있는 약제로 주장되기도 했다. 치수 절단술에 이용되고 있는 ferric sulfate는 강력한 지혈제로 치과영역에서 여러 가지 지혈 목적에 이용되고 있으며, 치수 절단술에 이용되어 잔존 치수조직의 효율적인 지혈을 진행시킴으로써 치수절단술의 임상적인 성공을 증진시킬 수 있다고 보고되었으며²⁰⁾, Landau와 Johnsen²¹⁾은 원숭이 치아에서, 최 등²²⁾은 Beagle에서 formocresol을 이용한 경우보다 이차 상아질 및 부분적인 상아교 형성등에서 더 양호한 조직학적 변화를, Fei 등²⁰⁾은 formocresol 치수절단술에 비해 우수한 방사선학적, 임상적 결과가 보고하였다. 최근 치수 절단술 후 조직의 재생을 유도할 수 있는 약제에 대한 연구는 enriched collagen과 bone morphogenetic protein을 이용하여 동물을 대상으로 진행되어 긍정적인 결과가 보고되고 있다¹⁴⁾. 이러한 약제들을 이용한 방법 이외에 전기적인 방법이 치수 절단술에 시도된 바 있다²³⁾. 빠르고 효율적인 지혈이 장점으로 알려졌으나 전기적인 치수 절단술의 결과에 대해서는 아직도 이견이 존재하고 있다. 일반적으로 약제의 안정성을 평가하기 위해서는 세포 독성에 대한 평가가 이루어지는데, 이 때, 가장 많이 이용되는 방법은 MTT분석으로 이 방법에 의해 Sun 등¹⁶⁾, Jeng 등²⁴⁾의 보고가 있었다. 반면, 조직의 치유 과정에서 중요한 역할을 하는 단백질과 알칼리성 인산효소에 대한 평가는 Chan 등²⁵⁾과 양 등²⁶⁾에 의해 치수 조직에 대한 연구가 진행된 바 있으나, 치수 조직에 대한 평가는 진행되지 않았다.

위에서 살펴본 바와 같이 최근까지 유치의 치수 절단술에 사

용되는 여러 가지 약제에 대한 연구가 지속됨에도 불구하고 formocresol을 대체할 만한 만족스런 약제가 뚜렷하지 않은 실정으로 현재 사용되는 약제들의 조직에 미치는 직접적인 영향력과 치료 후 조직의 치유에 관련이 있는 요소들의 변화에 대한 비교 평가가 이루어지지 않은 상태이다. 본 연구의 목적은 현재 유치의 치수 절단술에 이용되는 formaldehyde, formocresol, paraformaldehyde, ferric sulfate등을 이용하여 치수 섬유모세포 활성화의 변화로 세포 독성을 관찰하고, 동일 세포에서 단백질 합성과 알칼리성 인산효소의 활성 변화를 관찰하여 조직의 치유에 미치는 영향에 대한 평가를 시행하기 위한 것이다.

II. 실험재료 및 방법

1. 실험재료

세포는 일차배양으로 얻은 사람 치수 섬유모세포를 사용하였다. 치수 섬유모세포의 일차 배양을 위해서는 교정목적으로 발거된 치아를 Dulbecco's Modified Eagle Media(DMEM; Gibco, U.S.A.)으로 수세한 후, 멸균된 기구를 이용하여 치수 조직을 떼어내었다. 이 때 치주인대 섬유모세포에 의한 오염을 막기 위해 치근단 1/3 부위의 조직을 제거하였다. 이렇게 얻은 치수 조직은 다시 penicillin (100unit/ml) - streptomycin (100 μ g/ml)(Gibco, USA)이 포함된 DMEM으로 수세하고 면도날로 잘게 잘라 배양접시 위에 올려 놓았다. 10% fetal bovine serum (FBS; Gibco, USA)과 DMEM을 최소량 첨가하고 섭씨 37 $^{\circ}$ C, 5% 이산화탄소 하에서 배양하여 배양접시에 조직이 부착되도록 하였다. 조직의 부착이 확인되면, 동일한 배양액과 조건하에서 배양하였다. 세포가 조직으로부터 충분히 자라 나오면 배양접시에서 조직을 제거하였다. 세포가 배양접시에 어느 정도 차게 되면 배양접시에서 배양액을 제거하고, 칼슘과 마그네슘이 포함되지 않은 Hanks balanced salt solution (HBSS; Gibco, U.S.A.)으로 세정하고 0.05% trypsin - 0.53mM tetrasodium ethylenediamine tetraacetic acid (EDTA; Gibco, U.S.A.)를 넣어 세포가 배양접시 바닥에서 떨어지도록 하였다. 이렇게 얻은 세포는 1 : 3의 비율로 계대 배양하였다. 세포는 일주일에 3회씩 배양액을 교환하면서 동일한 조건에서 배양하였으며 이렇게 얻은 치수 섬유모세포중 제4~5대의 세포를 실험에 사용하였다.

2. 실험방법

실험은 세포활성의 평가, 단백질 합성능의 평가, 알칼리성 인산효소활성의 평가로 나누어 시행하였다.

1) 치수 절단술 약제의 준비

각 치수 절단술 약제는 19% formocresol (formaldehyde 40%, cresol 40%, ethanol 20% ; Agsa Japan Co. LTD,

Japan), paraformaldehyde (Ted Pella Co., U.S.A.), formaldehyde (Showa Co. Japan), 그리고 100% ferric sulfate (Ultradent products co., U.S.A.)를 0.01, 0.05, 0.25, 0.5, 1 μ /ml의 농도로 준비한다. 대조군으로는 완충액이 이용되었다.

2) 세포활성의 평가

세포활성의 평가를 위해 MTT (3-[4,5- dimethylthiazol-2-yl)- 2.5 diphenyl tetrazolium bromide : Thiazolyl blue ; Sigma, U.S.A.) 분석²⁷⁾을 시행하였다. 먼저 각 세포를 24-well 세포배양판(Falcon, U.S.A.)에 well당 2 \times 10⁴개의 밀도로 분주하였다. 10% FBS가 포함된 배양액에서 3~5일간 배양하여 세포가 가득차게 배양한 후 동일한 배양액을 각 well에 500 μ 씩 넣은 후 각 치수 절단술 약제들을 첨가하였다. 대조군은 동량의 완충액만을 첨가하였다. 약물을 첨가하고 다시 동일한 조건에서 20시간 배양한 후 배양액을 제거하고 각 well에 동일한 배양액을 500 μ 씩 첨가하고, 0.01M phosphate buffered saline (PBS)에 5mg/ml의 농도로 녹인 MTT 용액을 필터로 여과하여 well당 50 μ 씩 첨가하였다. MTT 용액을 첨가한 후 다시 동일한 배양조건에서 4시간 배양하였다. 그 후 배양액을 제거하고 0.04 N 염산이 포함된 isopropanol을 well당 500 μ 씩 첨가하여 반응물을 용해시킨 후 96well plate로 옮겨 Microplate Reader (Model 550, Bio-Rad, U.S.A.)로 630 nm 파장을 참고로 하여 570nm의 파장에서 측정하였다.

3) 단백질합성능의 평가

단백질 합성능을 평가하기 위하여 Bio-Rad 사의 protein assay kit를 이용하여 총 단백질 합성량을 측정하였다. 먼저 각 세포를 24-well 배양판에 well당 2 \times 10⁵개가 되도록 분주하고 10% FBS가 포함된 배양액으로 세포가 well에 가득 찰 때까지

배양한 후 HBSS로 세정하고, 0.5% FBS가 포함된 배양액을 각 well에 500 μ 씩 넣은 후 formaldehyde, Paraformaldehyde, Formocresol, Ferric sulfate를 준비된 농도로 첨가한다. 대조군은 동량의 완충액만을 첨가하였다. 그 후 24시간 동일한 조건에서 배양한 후 각 well에서 10 μ 씩을 취한 후 protein assay dye를 첨가하고 실온에서 20분간 방치한 뒤 Microplate Reader를 이용하여 595nm의 파장에서 측정하였다.

4) 알칼리성 인산효소 활성의 평가

단백질 합성능 평가의 경우와 동일하게 세포를 분주하고 배양한 후 실험약제들을 투여하였다. 그 후 24시간동안 동일한 조건에서 배양하고, 배양액을 제거한 후 세포층을 HBSS로 2회 수세한 후 각 well에 생리식염수에 0.1%의 농도로 희석한 Triton X-100 (Polyscience)을 첨가하고 실온에서 30분간 방치하였다. 0.1M glycine-NaOH 완충액 (pH 10.4)에 100mM 농도로 용해시킨 p-nitrophenyl phosphate를 각 well에 첨가한 후 37 $^{\circ}$ C에서 10분간 배양하였다. Microplate Reader로 405nm의 파장에서 측정하였다.

III. 실험성적

1. 세포활성의 평가

치수 섬유모세포의 활성을 평가하기 위해 MTT 분석을 시행한 결과는 다음과 같다.

치수 섬유모세포에서의 세포활성의 변화를 살표본 실험에서 formocresol, formaldehyde, paraformaldehyde를 투여하고 24시간 후 관찰한 결과 대조군에 비해 세포 활성의 감소가 크게 나타났다. 이 세 가지 약제의 경우 0.01 μ /ml의 농도에서 0.05 μ /ml 사이의 저농도에서, 그리고, 0.25 μ /ml 이상의 비교

Table 1. The changes of the cell activity of pulp fibroblasts after incubation of various pulpotomy medicaments. (N=12)

Concentration (μ /ml)		0.01	0.05	0.10	0.25	0.50	1.00
FC	MEAN	97.8	86.7	44.3	19.8	13.9	13.8
	SD	4.5	3.5	3.6	2.3	2.4	2.2
FA	MEAN	105.6	82.1	29.9	17.5	8.7	8.1
	SD	3.3	8.4	5.0	0.8	1.4	1.6
FS	MEAN	96.5	106.9	113.9	105.9	107.0	104.9
	SD	2.3	3.1	3.9	1.5	3.1	3.2
PFA	MEAN	96.2	75.7	64.7	16.1	13.1	4.4
	SD	2.2	5.3	3.2	7.0	2.0	1.5

FC : Formocresol, FA : Formaldehyde, FS : Ferric sulfate, PFA : Paraformaldehyde, SD : Standard Deviation

Concentration (μ /ml)		0.01	0.05	0.10	0.25	0.50	1.00
FC			**	**	**	**	**
FA		**	**	**	**	**	**
FS		**	**	**	**	**	**
PFA		**	**	**	**	**	**

Significant values : * p<0.005, ** p<0.001

적 높은 농도에서 유의성있는 감소(p<0.005)를 보였다. formaldehyde의 경우 0.05 μ /ml의 농도와 0.10 μ /ml 사이에서, paraformaldehyde의 경우 0.10 μ /ml농도에서 0.25 μ /ml 농도 사이에서 세포 활성도의 변화가 가장 크게 나타났다. 반면, ferric sulfate의 경우에는 모든 농도에서 세포활성의 변화가 거의 일어나지 않았으며 오히려 대조군에 비교하여 세포의 활성을 약간 증가시킨 결과를 나타내었다(Table 1, Fig. 1).

2. 단백질 합성능의 평가

단백질 합성능의 평가를 위한 protein assay를 시행한 결과는 다음과 같다 (Table 2, Fig. 2). 치수 섬유모세포에 치수 절단술 약제들을 첨가하고 24시간이 지난 후 배양액 내에 존재하는 총단백질의 양을 비교하였을 때 총 단백질의 양은 formocresol, formaldehyde, ferric sulfate의 경우 대조군과

거의 차이가 나타나지 않았다. formaldehyde의 경우 0.01 μ /ml에서 0.10 μ /ml 사이에서 약간의 증감이 보였으나, 유의할만한 수치는 아니었다. Paraformaldehyde의 경우 0.01 μ /ml에서 0.10 μ /ml농도 사이에서는 유의할만한 변화가 보이지 않았으나, 0.10 μ /ml에서 0.25 μ /ml사이, 0.50 μ /ml에서 1.00 μ /ml사이의 농도에서 총단백질량의 큰 감소가 보였다.

3. 알칼리성 인산효소의 평가

p-nitrophenyl phosphate를 기질로 한 알칼리성 인산효소 활성의 평가를 시행한 결과는 다음과 같다 (Table 3, Fig. 3).

알칼리성 인산효소의 활성 변화는 formocresol을 투여한 경우 0.01 μ /ml의 농도에서는 대조군보다 높은 활성(103%)을, 0.05 μ /ml와 0.50 μ /ml 사이의 농도에서는 유의성 있게 감소된 효소의 활성을 보였다. paraformaldehyde의 경우 0.01 μ /

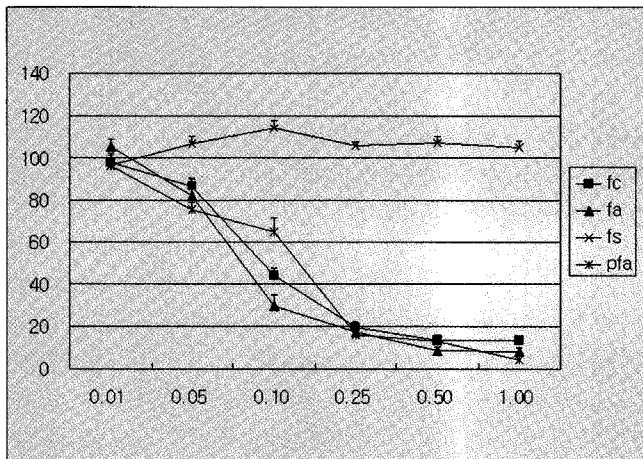


Fig. 1. The changes of the cell activity of pulp fibroblasts after incubation of various pulpotomy medicaments. (N=12)

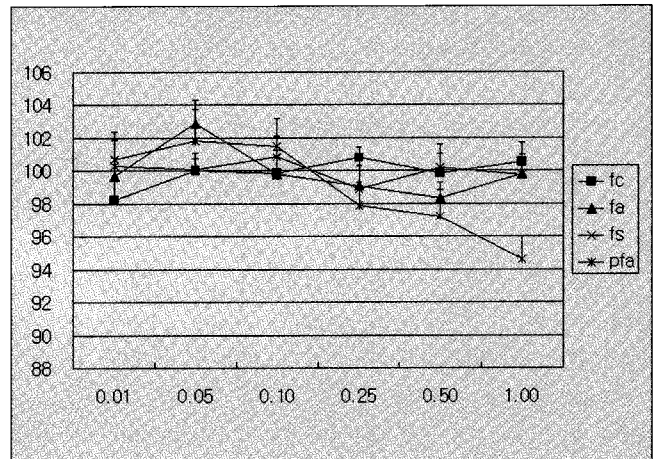


Fig. 2. The amount of the total protein in the media after incubation of pulp fibroblasts with the extracts of various pulpotomy medicaments. (N=8)

Table 2. The amount of the total protein in the media after incubation of pulp fibroblasts with the extracts of various pulpotomy medicaments. (N=8)

Concentration (μ /ml)		0.01	0.05	0.10	0.25	0.50	1.00
FC	MEAN	98.2	100.0	99.8	100.8	99.9	100.5
	S.D.	1.2	1.1	1.1	0.6	1.2	1.2
FA	MEAN	99.7	102.9	99.8	99.1	98.3	99.8
	S.D.	1.1	1.4	1.5	1.6	1.0	1.2
FS	MEAN	100.3	100.1	100.8	98.9	100.2	99.7
	S.D.	1.6	0.7	1.3	1.4	1.5	0.9
PFA	MEAN	100.7	101.8	101.5	97.9	97.2	94.6
	S.D.	1.7	1.9	1.7	1.4	1.6	1.4

FC : Formocresol, FA : Formaldehyde, FS : Ferric sulfate, PFA : Paraformaldehyde, SD : Standard Deviation

Concentration (μ /ml)	0.01	0.05	0.10	0.25	0.50	1.00
FC						
FA		**			*	
FS						
PFA					*	**

Significant values : * p<0.005, ** p<0.001

Table 3. The changes of the ALP activity of pulp fibroblasts after incubation with various pulpotomy medicaments. (N=12)

Concentration ($\mu\text{l/ml}$)		0.01	0.05	0.10	0.25	0.50	1.00
FC	MEAN	103.4	98.0	95.2	95.2	94.4	96.7
	S.D.	2.6	2.0	2.2	3.3	1.2	1.9
FA	MEAN	100.4	99.1	94.5	94.9	97.7	96.3
	S.D.	2.7	2.7	1.4	1.6	2.6	1.4
FS	MEAN	98.9	98.0	99.8	96.9	96.0	93.0
	S.D.	1.8	2.4	1.3	2.7	1.5	2.2
PFA	MEAN	103.0	101.0	100.8	96.6	98.0	93.7
	S.D.	2.0	2.0	2.0	1.9	1.3	3.1

FC : Formocresol, FA : Formaldehyde, FS : Ferric sulfate, PFA : Paraformaldehyde, SD : Standard Deviation

Concentration($\mu\text{l/ml}$)	0.01	0.05	0.10	0.25	0.50	1.00
FC	*		**	**	**	**
FA			**	**		**
FS					**	**
PFA	*			**	*	**

Significant values : * $p < 0.005$, ** $p < 0.001$

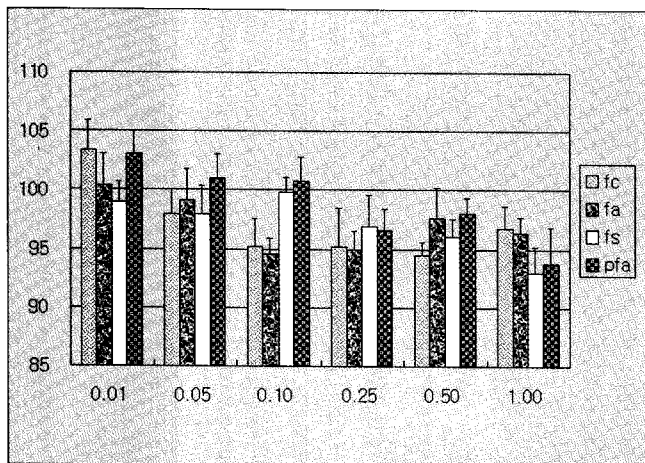


Fig. 3. The changes of the ALP activity of pulp fibroblasts after incubation with various pulpotomy medicaments. (N=12)

ml에서 0.10 $\mu\text{l/ml}$ 의 농도까지는 대조군에 비해 활성이 약간 증가된 상태를 보였으나, 0.25 $\mu\text{l/ml}$ 이상의 농도에서는 유의성 있는 감소양상을 나타내었다. Formaldehyde, ferric sulfate 에서는 모든 농도에서 대조군에 비해 감소된 효소의 활성을 보였다. formaldehyde, formocresol, paraformaldehyde의 경우 0.50 $\mu\text{l/ml}$ 와 1.00 $\mu\text{l/ml}$ 의 농도사이에서 효소의 활성화 증가가 관찰되었다.

IV. 총괄 및 고찰

유치에서 치수 절단술을 시행하는 것은 치아 우식증에 의해 치수가 노출되었거나 치관부에 감염이 진행된 상태에서 치아를 치열궁내에 지속적으로 보존하기 위해서다. 지난 60여년간 formocresol (19% formaldehyde)을 이용한 유치의 치수 절단술은 유치의 치수 치료로 가장 널리 시행된 방법이다. 1989년 Avram과 Pulver²⁾는 formocresol이 76.8%이상에서 유치

의 치수 절단술 약제로 이용되고 있다고 보고하였다. 1930년대 Sweet은 유치에서 치수 절단술을 시행한 후 여러번 formocresol을 도포하여 완전한 mummification을 유도하여 조직의 고정과 살균을 얻었다고 보고하였다. 이 방법은 점차 지혈 후 5분간 formocresol을 적용시키는 방법으로 변화하여 조직의 부분적인 mummification을 유도하게 되었다¹⁴⁾. 이에 대해 Spedding 등¹⁵⁾은 완전한 mummification을 진행하였을 때의 완전한 살균과 대사 억제기능을 상실하게 되어 임상적인 성공률을 저하시킬 것이라고 주장하였다. 반면, formocresol의 후속 영구치에 대한 국소적, 혈류를 통한 전신적인 영향력에 대한 부정적인 보고⁸⁻¹¹⁾가 있는 이후 이를 감소시키기 위한 연구가 지속되었다. 약제의 농도를 1 : 5로 희석하여 사용하여도 동일한 임상적인 결과와 조직학적인 소견을 보였다고 보고하였다^{28, 29)}. Rolling 등³⁰⁾의 연구에서 치수 절단술을 시행한 후 임상적으로 좋은 결과를 얻었다고 생각되는 치아들을 대상으로 한 조직학적 분류가 진행되었다.

동일한 aldehyde 제재인 paraformaldehyde가 유치의 치수 절단술에 관하여 많은 논란이 있었다. Kenny 등³¹⁾은 소아치과 영역에서 aldehyde를 함유한 약제를 사용에 부정적인 의견을 제시하였으며, 그에 반해 Neiburger³²⁾는 paraformaldehyde가 포함된 약제가 충전에 이용되는 경우 시술 후 환자가 느끼는 동통등의 자각 증세가 가장 적게 나타났다고 보고하였다. paraformaldehyde를 포함한 paste를 이용한 전신으로의 흡수를 관찰하였을 때, 1시간과 28일에 걸친 기간동안 시간 경과에 따라 점차 14C-labeled paraformaldehyde의 양이 감소되는 양상을 보였다. Wehner는 paraformaldehyde가 formaldehyde의 trimeric 형태로 하루에 1~2mg 정도의 소량의 formaldehyde만을 방출하는 "depot - compound"로써 조직에 접촉시 즉시 고정이 발생되고, 이후 바로 formic acid와 carbon dioxide로 생분해되어 유의하여 사용하는 경우 우려할 만한 조직에 대한 위해성은 나타나지 않는다고 보고하였다.

formocresol을 대체할 수 있는 약제로 glutaraldehyde는 formocresol에 비해 비가역적인 치수 반응, 큰 분자량에 의해 치근단공을 통과할 우려가 적다는 점, 조직의 즉시 고정 등의 장점을 가지고 있다. 그러나, Sun 등¹⁶⁾은 glutaraldehyde를 적용하는 경우 알려진 바와 달리 노출 시간이 짧을 경우 치수 절단부의 최상부에만 좁은 고정층을 가지게되어 부분적인 세포의 손상을 가져와 결국 만성적인 세포 손상을 가져올 수 있고, 24시간동안의 세포독성은 formaldehyde와 거의 유사하다고 보고하였고, Ranly와 Garcia-Godoy³³⁾의 연구에서 glutaraldehyde의 경우 고농도의 약제를 이용하여 순간적인 고정을 얻어야 할 뿐 아니라 고정층의 quality를 증가시키기 위해서는 약제와의 긴 접촉시간이 요구되어진다는 결과를 보고하였다. Fuks 등³⁴⁾은 2% glutaraldehyde를 이용한 치수 절단술 후 임상적 성공률에 대한 평가를 시행하여 적용시간이 긴 경우 보다 좋은 조직학적인 반응을 기대할 수 있다고 보고하였으며, Garcia-Godoy와 Ranly³⁵⁾는 glutaraldehyde와 ZOE를 이용한 임상적 평가에서 35개의 치아 중 48.6%의 치아에서 임상적인 실패를 보고하였다. Garcia-Godoy와 Pereya³⁶⁾는 glutaraldehyde에 대한 치수의 반응을 평가하여 많은 논란이 있었다. 이렇듯 formocresol을 대체할 수 있는 획기적인 약제로 큰 기대를 모았던 glutaraldehyde도 실제 임상에 적용되어지지 못하고 있는 실정이다. 본 연구에서 살펴보면, 각 농도의 약제를 24시간 동안 적용시킨 후에 세포 활성을 평가하였을 때 ferric sulfate를 제외한 모든 약제의 경우 농도의 증가에 따라 유의성 있게 세포의 활성이 감소하는 결과가 나타났으며, 이에 따라 추정하였을 때 glutaraldehyde의 경우도 강한 농도를 적용하는 경우에는 치수 조직의 세포 활성을 크게 감소시키리라 생각된다.

지혈제로 이용되는 ferric sulfate가 주목을 받기 시작한 것은 약제 적용 전의 지혈이 치수 절단술의 성공에 영향을 줄 수 있는 중요한 요인으로 생각되었기 때문이었다³⁷⁾. 1997년 Fuks 등³⁸⁾은 ferric sulfate와 희석된 formocresol을 유치의 치수절단술에 사용한 연구 결과 formocresol을 대체할 수 있는 치수 절단술 약제를 ferric sulfate로 규정하였다. ferric sulfate와 formocresol을 이용한 치수 절단술 비교시, 1년 후의 임상 및 방사선학적 성공률이 ferric sulfate군에서 더 높았음이 보고된 바 있다. 그러나, Fei 등²¹⁾의 ferric sulfate를 이용하여 시행한 임상적인 연구에서 치료받은 치아의 60%에서만 정상적인 상황을 보이고, 40%에서는 심한 염증상태가 관찰되어 formocresol에 비해 낮은 임상적 성공률을 나타내어 이전의 연구와 다른 결과를 나타내기도 하였다.

본 실험에서 세포에 대한 독성을 평가하기 위해 세포의 활성도를 측정하는 MTT 분석을 시행하였다. MTT분석은 세포호흡의 주요부위인 mitochondria내의 dehydrogenase 활성을 측정하는 것으로 독성 물질의 세포에 대한 독성평가를 위한 특이성 지표로, cell monolayer의 파괴없이 효소의 평가를 시행할 수 있으므로 현재 가장 많이 이용되고 있다²⁷⁾. Sun 등¹⁶⁾은 WI-38세포(human embryonic lung fibroblast origin)를 대상으

로 19% formaldehyde와 glutaraldehyde의 세포 독성에 대한 시간과 농도 사이의 상관 관계를 MTT 분석으로 연구하였는데, formaldehyde의 경우 0.06mM과 0.6mM 사이에서는 효소 활성화의 변화가 일어나지 않았고, 0.6mM 이상의 농도에서는 급격한 효소 활성 감소가 보여졌다. 4시간, 8시간, 24시간의 적용시간 사이에는 차이가 보여지지 않았다. 그러나, 본 실험에서의 결과는 formaldehyde를 적용한 경우 0.01mM과 0.05 mM 사이에서도 효소 활성의 감소가 보여졌고, 이후의 농도에서는 Sun 등¹⁶⁾의 실험에서와 유사한 급격한 변화를 관찰할 수 있었다. 이 결과는 사람의 치수 섬유모세포를 대상으로 독성 연구를 시행한 Jeng 등²⁴⁾의 연구와 유사한 결과로 결국 대상 세포가 사람의 치수 섬유모세포인 경우 배양이 어려우므로 낮은 농도에서도 세포 활성의 변화가 일어난 것으로 생각된다. Massler와 Mansukhani³⁹⁾는 사람의 치수 섬유모세포를 대상으로 한 연구에서 formocresol의 세포독성은 cresol이 아닌 formaldehyde에 의한 것이라는 결과를 얻었으며, Jeng 등²³⁾의 연구에서도 동일한 결과를 얻었고, glutaraldehyde와 비교하여 formaldehyde의 세포독성이 강하게 나타남을 보고한 바 있다. 그러나, Ranly와 Fulton⁴⁰⁾은 쥐의 조직학적인 연구에서 cresol군이 회복을 지연시킴으로써 조직에 유해한 성분이라는 의견을 제시하였다. 본 실험 결과 formaldehyde, formocresol, paraformaldehyde등의 약제가 가지는 세포에 대한 활성이 농도에 따라 크게 감소되었으며, formaldehyde와 formocresol에는 차이가 보여지지 않았으므로, Massler와 Mansukhani³⁹⁾의 연구와 동일한 결과를 얻었다. 반면, ferric sulfate가 세포의 활성에 미치는 영향은 오히려 세포의 활성을 증가시키는 결과로 나타났는데, 이러한 결과는 ferric sulfate를 치수 절단술에 이용하는데 대한 긍정적인 측면이 될 수 있다. 세포 활성의 증가는 세포 증식이 활발히 진행되었다는 의미일 수도 있고, 세포 자체의 기능이 증가한 상태를 의미할 수도 있으며, 어떤 의미이던지 치료 후에 치수 조직에서 일어날 수 있는 치수에 도움을 줄 수 있으리라 생각된다. 그러나, ferric sulfate를 이용하는 경우 조직에 대한 고정이 일어나지 않으므로 보다 엄격하게 적응증이 선택되어야 하고, 치수 조직면에 직접 접촉하는 이장제에 대한 연구가 지속되어야 보다 안정적인 임상의 적용이 가능하리라 생각된다. 본 실험은 약제들이 세포의 활성, 단백질 합성과 알칼리성 인산효소의 활성에 미치는 영향을 비교 평가하고자 진행되었으나, 실험 조건이 실제 임상에서 적용되고 있는 약제를 0.01 $\mu\text{l/ml}$, 0.05 $\mu\text{l/ml}$, 0.10 $\mu\text{l/ml}$, 0.25 $\mu\text{l/ml}$, 0.50 $\mu\text{l/ml}$, 1.00 $\mu\text{l/ml}$ 의 농도로 희석하여 사용하였고, 적용시간도 24시간으로 임의 설정을 하여 실험한 결과이므로 실제 임상적인 적용과는 차이가 있고 치수 및 하방 조직의 위해성에 대한 평가는 약제 적용 직후에 일어나는 세포내의 변화 뿐 아니라 이후 발생하는 조직의 치유과정에 대한 관찰이 진행되어야 한다.

조직의 치유과정에 대한 연구는 주로 치주 조직을 대상으로 단백질 합성과 알칼리성 인산효소의 활성에 대한 평가로 진행

되었으며, 실제적으로 Chan 등²⁵⁾의 보고에서도 thrombin이 치주인대 섬유모세포의 성장, 단백질 합성, 부착, 알칼리성 인산효소의 활성에 미치는 영향에 대해 연구하여 치수 수술 후 초기 치유에 좋은 영향을 미칠 것이라 보고하였고, 치근단 역충전 재료로 한 양 등²⁶⁾의 연구에서, 치주인대 섬유모세포와 골모세포를 대상으로 단백질 합성과 알칼리성 인산 효소의 활성 변화를 관찰하여 치주인대의 치유에 미치는 영향력을 평가한 바 있다. 치수 섬유모세포를 대상으로 한 연구에서 알칼리성 인산효소의 활성이 높은 경우, 치수 조직의 병적인 석회화가 유도될 수 있다는 견해도 제시되었다⁴¹⁾. 그러나, 치수 절단술에 이용되는 약제를 대상으로 치유에 관여되는 인자에 대해 평가를 시행한 연구는 진행되지 않은 것으로 생각된다. 본 실험에서 총단백질의 양의 변화는 formaldehyde, formocresol, ferric sulfate에서 대조군과 거의 유사하게 나타났다. 이렇듯 세포의 활성이 감소된 약제와 세포의 활성을 오히려 증가시킨 약제 사이에 총단백질의 양에 대한 유의성 있는 차이가 보여지지 않는 이유는 본 실험의 방법이 배양액내에 존재하는 총단백질의 양을 측정하는 것이었으므로, 세포에 의해 합성된 단백질이 아니라 배양액내에 존재하는 단백질이 모두 검출되었기 때문으로 생각된다. formocresol, formaldehyde, paraformaldehyde의 경우 약제가 가지는 세포독성에 의해 세포가 파괴되어 세포막이 손상되면서 세포내 여러 단백질이 세포외로 유출되어 배양액내에 남아있음을 의미하므로 이러한 단백질이 모두 총단백질로 검출될 수 있다. 실험성적으로는 나타나지 않으나, 세포에서 합성된 단백질양을 측정하기 위해 배양액을 제거한 후 남아있는 세포내의 단백질양을 측정된 결과에서 ferric sulfate에서만 단백질 양이 균일함을 알 수 있었다. 다른 약제의 경우는 단백질양이 점차 감소되었다. paraformaldehyde를 적용한 경우는 총단백질 양이 농도 변화에 따라 약간 감소하는 경향이 보여졌으며, 0.50 $\mu\text{l/ml}$ 농도와 1.00 $\mu\text{l/ml}$ 농도 사이에서 유의성 있는 감소가 나타났다. 이렇게 paraformaldehyde에서 농도가 높아짐에 따라 총단백질 양이 감소하는 경향을 보이는 이유는 이 약제에 의해서 세포의 활성이 감소된 것 뿐 아니라 다른 약제(formaldehyde, formocresol)에 비교하여 단백질 합성 자체를 저해하는 요인이 된 것으로 추정할 수 있다. 그러나, 어떠한 기전에 의해 단백질 합성이 저해되는 것인지는 세포 형태의 변화 등을 관찰하여야 할 것이다. 치수 섬유모세포내에 존재하는 알칼리성 인산효소의 활성의 변화를 관찰한 결과 모든 약제에서 농도 변화에 따라 대체적으로 감소하는 양상을 보였다. paraformaldehyde를 적용한 경우 저농도(0.01 $\mu\text{l/ml}$ ~ 0.10 $\mu\text{l/ml}$)에서는 대조군에 비해 약간 증가한 상태의 효소 활성을 나타냈으나, 농도가 증가함에 따라 점차 효소의 활성이 감소되는 경향을 보였다. Formaldehyde의 경우 0.25 $\mu\text{l/ml}$ 이하의 농도에서는 효소의 활성이 점차 감소되는 경향을 보였으며, 0.50 $\mu\text{l/ml}$ 이상의 농도에서 효소의 활성화는 약간 증가됨을 관찰할 수 있었다. formocresol을 적용하였을 경우에도 효소의 활성이 거의 감소되다가 1.00 $\mu\text{l/ml}$ 의 농도에서 유의성 있는 활성의 증가

가 보여졌다. 세포의 활성화와 단백질 합성에 거의 영향을 미치지 않는 것으로 관찰된 ferric sulfate의 경우에도 알칼리성 인산효소의 활성은 감소되는 것이 관찰되었다. 본 실험에서 치수 섬유모세포의 알칼리성 인산효소의 활성 변화를 관찰하였으나, 대상 세포내에 알칼리성 인산 효소의 양이 워낙 미량 존재하여 실험에 대한 유의성을 밝히기에는 부족하리라 보여지며, 실제적으로 치수에서 상아질의 형성에 관여하는 상아모세포나 골을 형성하는 골모세포에서의 알칼리성 인산효소의 활성에 대한 실험이 지속적으로 진행되어 치수 절단술이 진행된 이후 치수 조직에서 나타나는 조직변화에 대한 정확한 평가가 이루어질 수 있으리라 생각된다.

상기한 바 대로 현재 치수 절단술에 이용되는 약제 중 formaldehyde, formocresol, paraformaldehyde는 치수 섬유모세포에 대한 세포의 활성을 감소시키고, 단백질 합성 및 알칼리성 인산효소의 활성을 감소시키는 것으로 나타났다. 특히, paraformaldehyde의 경우 조직의 치유과정에서 필요한 단백질 합성을 유의성 있게 감소시키는 것으로 관찰되었다. 반면, ferric sulfate는 치수 섬유모세포의 활성을 유지, 혹은 증가시키는 역할을 하고, 그 외에 치유에 도움을 줄 수 있는 단백질 합성도 별다른 영향을 받지 않는 것으로 관찰되었으며, 알칼리성 인산효소의 활성은 감소되는 양상이 보였다.

본 실험은 현재 유치의 치수 절단술에 이용되는 약제들만을 대상으로 한 실험으로 현재 연구 중인 bone morphogenetic protein, osteogenic protein(OP-1)등을 사용하여 약제 적용 시간과 방법의 변화, 대상이 되는 치수내 세포를 달리한 연구를 지속적으로 시행함으로써 유치의 치수 절단술에 사용될 수 있는 조직에 대한 위해성이 없으면서 좋은 임상적 결과를 나타낼 수 있는 이상적인 치료 약제의 제시가 이루어질 수 있으리라 생각된다.

V. 결 론

유치의 치수 절단술에 이용되는 약제들(formaldehyde, formocresol, paraformaldehyde, ferric sulfate)이 농도 변화에 따라 치수 섬유모세포의 활성, 단백질 기질의 합성 및 무기질 침착에 미치는 영향을 규명하고자, 각각 0.01, 0.05, 0.10, 0.25, 0.50, 1.00 $\mu\text{l/ml}$ 의 농도로 인간의 치수 섬유모세포에 24시간 적용시킨 후 세포 활성검사와 함께, 조직의 재생과정 중 유기기질이 되는 단백질의 합성능과 무기질 침착에 관여하는 알칼리성 인산효소의 활성에 미치는 영향을 완충액만을 투여한 대조군과 비교 평가한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 치수 절단술 약제를 첨가한 후 24시간 배양하였을 때, formaldehyde, formocresol, paraformaldehyde 등의 경우 약제 농도가 증가함에 따라 대조군에 비하여 치수 섬유모세포의 세포활성이 크게 저하되었으며, 이 약제들 사이에는 유의할만한 차 이가 보이지 않았으나, ferric sulfate를 이용한 경우에는 세포활성이 유지되거나 약간 촉진되

었다(p<0.005).

2. 치수 절단술 약제 첨가 후 배양액내의 총단백질양에는 큰 변화가 없었으나, paraformaldehyde에 의해 총단백질양이 약간 감소하였다(p<0.005).
3. formaldehyde, formocresol은 0.10 μ /ml 이상에서, paraformaldehyde, ferric sulfate는 각각 0.25 μ /ml와 0.50 μ /ml 이상의 농도에서 치수 섬유모세포의 알칼리성 인산효소 활성을 약간 저해하였다(p<0.005).

치수 절단술 약제의 치수에 대한 세포 독성 평가시 ferric sulfate가 다른 약제에 비교하여 양호한 결과를 나타내었으나, 안정적인 유치의 치수 치료가 이루어지기 위해서는 지속적인 임상 연구의 진행이 필요하리라 생각된다.

참고문헌

1. Guidelines for pulp therapy for primary and young permanent teeth. AAPD reference manual : 53-6, 1991-1992.
2. Avram DC, Pulver F : Pulpotomy medications for vital primary teeth. J Dent child 56:426-434, 1989.
3. Buckley JP : The chemistry of pulp decomposition with a rational treatment for this condition its sequelae. Am Dent J 3:764, 1904.
4. Sweet CA : Procedure for treatment of exposed and pulpless deciduous teeth. JADA 17:1150, 1930.
5. Garcia-Godoy F : Radiographic evaluation of root canal mummification following formocresol pulpotomy. J Dent Child : 430-2, 1983.
6. Fuks AB, Bimstein E, Bruchim A : Radiographic and histologic evaluation of the effect of two concentrations of formocresol on pulpotomized primary and young permanent teeth in monkeys. Pediatr Dent 5 :9-13, 1983.
7. Rolling I, Hasselgreen E, Tronstad L : Morphologic and enzyme histochemical observations on the pulp of human primary molars three to five year after formocresol treatment. Oral Surg, 42:518-528, 1976.
8. Block RM, Lewis RD, Sheats JB : Cell-mediated immune response to dog pulp tissue altered by formocresol within the root canal. J Endodon. 3:424-430, 1977.
9. Pruhs RJ, Olen GA, Sharma PS : Relationship between formocresol pulpotomies on primary teeth and enamel defects on their permanent successors. JADA, 94:698-700, 1977.
10. Myers DR, Pashley DH, Whitfors GM et al. : Tissue changes induced by the absorption of formocresol from pulpotomy sites in dogs. Pediatr Dent, 5:6-8, 1983.
11. Straffon LH, Han SS : Effects of varying concentrations of formocresol on RNA synthesis of connective tissue in sponge implant. Oral Surg : 915-25, 1970.
12. Loos PJ, Straffon LH, Han SS : Biologic effects of formocresol. J Dent Child, 40:193-7, 1973.
13. Ranly D : Pulpotomy therapy for primary teeth : new modalities for old rationales. Pediatr Dent, 16:403-409, 1994.
14. Nakashima M : Induction of dentine formation on canine amputated pulp by recombinant human bone morphogenetic proteins (BMP)-2 and 4. J Dent Res, 73:1515-1522, 1994.
15. Spedding RH, Mitchell DF, McDonald RE : Formocresol and calcium hydroxide therapy. J Dent Res, 44:1023-1034, 1965.
16. Sun HW, Feigal RJ, Messer HH : Cytotoxicity of glutaraldehyde and formaldehyde in relation to time of exposure and concentration. Pediatr Dent, 12(5):303-7, 1990.
17. Fuks AB, Bimstein E, Michaeli Y : Glutaraldehyde as a pulp dressing after pulpotomy in primary teeth of baboon monkeys. Pediatr Dent, 8 : 32-6, 1986.
18. Martin H : Connective tissue reactions to acid glutaraldehyde. Oral Surg, 58:706-14, 1984.
19. Myers DR et al : Systemic absorption of ¹⁴C-glutaraldehyde from glutaraldehyde-treated pulpotomy sites. Pediatr Dent, 8:134-8, 1986.
20. Fei AL, Udin RD, Johnson R : A Clinical study of ferric sulfate as a pulpotomy agent in primary teeth. Pediatr Dent, 13:327-332, 1991.
21. Landau MJ, Johnsen DC : Pulpal response to ferric sulfate in monkeys. J Dent Res, 67:215, abstract #822, 1988.
22. 최장규, 김종여, 김종수, 김용기 : 지혈적 치수 절단술의 효과에 관한 조직학적 연구. 대한소아치과학회지, 25:19-37, 1998.
23. Fishman SA, Udin RD, Good DL et al. : Success of electrofulguration pulpotomies covered by zinc oxide and eugenol or calcium hydroxide : a clinical study. Pediatr Dent, 18(5):385-90, 1996.
24. Jeng HW, Feigal RJ, Messer HH : Comparison of the cytotoxicity of formocresol, formaldehyde, cresol, and glutaraldehyde using human pulp fibroblast cul-

- tures. *Pediatr Dent*, 9(4):295-300, 1987.
25. Chan CP, Lin CP, Chang MC et al. : Effects of thrombin on the growth, protein synthesis, attachment, clustering and alkaline phosphatase activity of cultured human periodontal ligament fibroblasts. *Proc Natl Sci Counc Repub China B*, 22(4):137-43, 1998.
 26. 양미영, 최기운, 민병순, 박상진, 최호영 : 수종 치근단 역충전 재료가 배양된 치주인대 섬유모세포 및 뼈모세포의 활성화에 미치는 영향. *대한치과보존학회지*, 24(1) : 76-87, 1999.
 27. Mosmann T : Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival : application to proliferation and cytotoxicity assays. *J Immunol Method*, 65:55-63, 1983.
 28. Pashley EL, Myers DR, Pashley DH : Systemic distribution of ¹⁴C-formaldehyde from formocresol-treated pulpotomy sites. *J Dent Res*, 43:602-8, 1980.
 29. Ranly DM, Hom D : Assessment of the systemic distribution and toxicity of formaldehyde following pulpotomy treatment : part Two. *J Dent Child*, 54:40-33, 1987.
 30. Rolling I, Hansen HL : Pulp condition of successfully formocresol-treated primary molars. *Scand J Dent Res*, 86:267-272, 1978.
 31. Kenny DJ : Time to reconsider the use of aldehydes in children's dentistry. *J Can Dent Assoc*, 53:333, 1987.
 32. Neiburger EJ : Patient comfort using three method of endodontic therapy : traditional, paraformaldehyde, and hybrid sealer techniques. *J Ala Ent Assoc*, 77(4):36-9, 1993.
 33. Ranly DM, Garcia-Godoy F : Time, concentration, and pH parameters for the use of GA as a pulpotomy agent : an in vitro study. *Pediatr Dent*, 9(3):199-300, 1987.
 34. Fuks AB, Bimstein E, Guelmann M : Assessment of a 2 percent buffered glutaraldehyde solution in pulpotomized primary teeth of school children. *AS-DC J Dent Child*, 57:371-75, 1990.
 35. Garcia-Godoy F, Ranly DM : Clinical evaluation of pulpotomies with ZOE as a vehicle for glutaraldehyde. *Pediatr Dent*, 9:144-46, 1987.
 36. Garcia-Godoy F, Pereya JH : Human pulpal response to glutaraldehyde. *J Dent Res* 68(Spec Iss):200, 1989.
 37. Schroder U : A 2-year follow-up of primary molars, pulpotomized with a gentle technique and capped with calcium hydroxide. *Scand J Dent Res*, 86:273-278, 1987.
 38. Fuks AB, Holan G, Davis JM, Eidelman E : Ferric sulfate versus dilute formocresol in pulpotomized primary molars : long-term follow up. *Pediatr Dent*, 19:327-330, 1997.
 39. Massler M, Mansukhani N : Effects of formocresol on the dental pulp. *J Dent Child*, 26:277-97, 1959.
 40. Ranly DM, Fulton R : Reaction of rat molar pulp tissue to formocresol, formaldehyde, and cresol. *J Endodont*:176-81, 1976.
 41. Tsukamoto Y, Fukutani S, Shin-lke T et al. : Mineralized nodule formation by cultures of human dental pulp-derived fibroblasts. *Arch Oral Biol*, 37(12):1045-55, 1992.

Abstract

THE CYTOTOXICITY OF PULPOTOMY MEDICAMENTS ON HUMAN PULP FIBROBLAST CELLS

Yeong Hee Lee, Keung-Ho Lee

Department of Pediatric Dentistry, College of Dentistry, Kyung-Hee University

The effect of concentration as factor in cytotoxicity, protein synthesis and alkaline phosphatase activity was compared for pulpotomy medicaments (formaldehyde, formocresol, paraformaldehyde, ferric sulfate). Human pulp fibroblasts were exposed to a range of concentrations(0.01, 0.05, 0.10, 0.25, 0.50, 1.00 μ /ml) of each agents, for period of 24hrs. The cell activities were evaluated by MTT assay, protein assay and alkaline phosphatase activity examination.

The results as follows :

1. After 24hrs culture, pulp fibroblasts adding formaldehyde, formocresol and paraformaldehyde were suppressed cell activities with concentration increasing, but, no depression of cell activities by ferric sulfate. No significant difference was in formaldehyde, formocresol and paraformaldehyde.
2. Protein synthesis by pulpotomy agents were not significant difference in pulp fibroblasts but protein synthesis were a little decreased by paraformaldehyde.
3. Alkaline phosphatase activity was a little decreased by pulpotomy medicaments.

Key words : Pulpotomy medicaments, Cytotoxicity, Pulp fibroblasts