Resin-Based Root Canal Sealer의 생체 적합성 평가

전북대학교 치과대학 치과보존학교실

김형선·전성민·문종현·이광원·유미경*

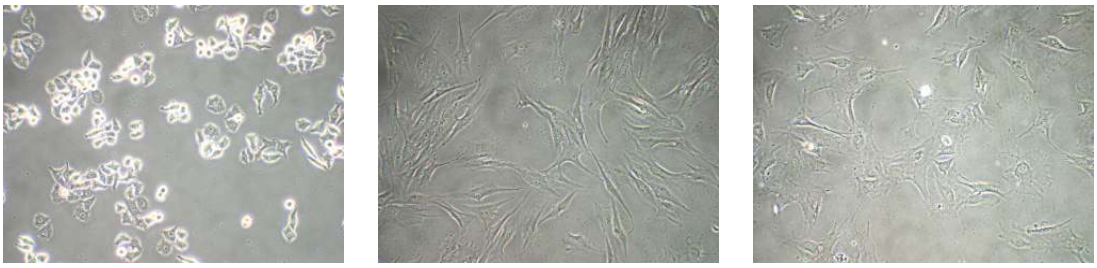
Ⅰ. 서 론

성공적인 근관치료를 위해서 근관의 적절한 세정 및 성형뿐만 아니라 근관충전은 중요한 요소이며 이러한 근관의 밀폐를 위해 gutta percha와 sealer가 주로 이용되고 있다. Sealer는 근관벽과 gutta percha 사이의 작은 틈과 불규칙한 벽을 채우는 역할을 하며 충전방법에 상관없이 충전에 꼭 필요한 구성 요소이다. Grossman은 이상적인 근관충전 물질의 필요조건에 대해 쉬운 적용 및 제거 가능성, 측방 및 근단부 쪽으로 근관벽의 적절한 폐쇄, 습기의 불투과성, 방사선 불투과성, 부피 안정성, 세균 저항성, 치근단 조직을 자극하지 않는 점 등을 언급하였다[1]. 하지만 근관충전 물질은 오랜 기간 동안 치근단 주변 조직에 매우 가깝게 접촉하게 되므로 생체 적합성은 무엇보다 중요하다 할 수 있다[2,3]. Gutta percha는 물질 자체가 생물학적으로 불활성 상태로 볼 수 있지만[4], sealer는 그렇지 않다. Sealer는 근관 내에 한정되어 사용된 경우에도 독성을 나타낼 수 있으며 치근단 부위에 수년 동안 지속되는 염증을 일으킬 수 있다는 보고도 있다[5]. 또한 sealer의 용출물이나 붕괴 또는 부식 산물들이 여러 경로를 통해서 주변 치주조직에 전해질 수 있다[3,6,7]. 그러므로 sealer와 그의 확산 가능한 성분들의 생체 적합성에 대한 정밀한 평가가 필요하다.

Root canal sealer의 생물학적 특성을 평가하기 위한 여러 실험방법들이 있다. 세포독성검사는 생체 적합성을 결정하는 첫 단계로 주로 행해지는 방법이며 일반적으로 세포배양을 통해 실험실에서 시행되며 동물실험에 비해 방법이 단순하며 비용이 저렴하다는 장점이 있다[8]. 전반적인 생체 적합성과 관련해 세포독성뿐만 아니라 유전자독성, 돌연변이 유발성, 발암성 등도 매우 중요한 논의점이다[9]. 그러나 이에 대한 연구는 매우 미흡하여 상대적으로 제한된 자료만이 존재한다.

이에 본 연구에서는 root canal sealer의 추출액으로 MTT assay를 이용해 세포독성을 평가하고, 비교적 최근 개발되어 포유류에서 DNA 손상 정도를 빠르고 민감하게 감지해내는 Comet assay (single cell gel electrophoresis assay)[10]를 이용해 유전자독성에 대해서도 평가해 보고자 한다.

현재 임상에는 수산화칼슘계, zinc oxide eugenol계, 레진계 등 다양한 종류의 sealer들이 상용되고 있다. 수산화칼슘계 sealer는 실험실상 연구에서 세포독성은 낮게 보고되고 있으나 생체 내에서 조직액에 대한 용해성이 문제시되고 있으며 장기간 높은 pH를 유지할 수 있는지에 대한 의문이 제기되고 있다[11,12]. Zinc oxide eugenol계 sealer는 여러 연구에서 중등도에서 심한 세포독성을 유발하며 유지놀이 독성의 주요 원인 인자라는 것이 이미 밝혀졌고, 유지놀과 파라포름알데하이드가 조합된 zinc oxide eugenol계 sealer는 더욱 심한 세포독성을 보이는 것으로 보고되고 있다. 그러므로 더 이상 zinc oxide eugenol계 sealer를 임상에 적용해서는 안 된다고 결론내리는 학자들도 있다[13]. 레진계 sealer의 세포독성은 연구에 따라 서로 다른 결과들을 보이



KB cell PDL cell MC-3T3-E1 cell

Fig. 1. Cells used in this study

Table 1. The components of the AH 26 and ADSEAL

Product	Composion	
AH 26	Powder	Bismuth oxide Methenamine Silver Titanium oxide
	Liquid	Bisphenol-A-diglycidylether
ADSEAL	Paste A	Epoxy oligomer resin Ethylene glycol salicylate Calcium phosphate Bismuth subcarbonate Zirconium oxide
	Paste B	Poly aminobenzoate Triethanolamine Calcium phosphate Bismuth subcarbonate Zirconium oxide Calcium oxide

나 조작이 편리하고 경화시 수축이 거의 없으며 근관벽에 잘 밀착하는 등 물리적 성질이 우수한 것으로 보고되고 있다.

이에 본 연구의 목적은 resin-based root canal sealer 중에 현재 국내에서 많이 쓰이고 있는 AH 26 (Dentsply DeTrey GmbH, Konstanz, Germany)과 최근 국내에서 개발된 ADSEAL (Meta Biomed, Seoul, Korea)에 대한 세포독성과 유전자 독성을 평가하는 것이다.

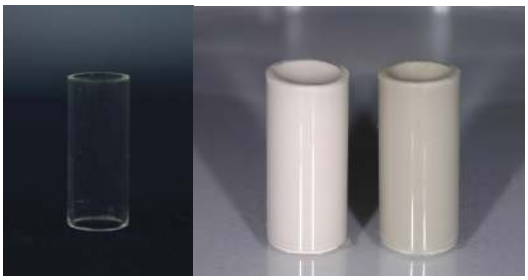


Fig. 2. Sample preparation

Ⅱ. 재료 및 방법

1. 실험재료

1) Resin-based root canal sealers

AH 26 (Dentsply DeTrey GmbH, Konstanz, Germany), ADSEAL (Meta Biomed, Seoul, Korea)을 사용하였고, 두 시료의 조성 성분은 Table 1에 표시하였다.

2) 실험세포

Human oral cancer cell (KB), human periodontal ligament cell, mouse osteoblast (MC-3T3-E1)를 이용하였다(Fig. 1).

2. 실험방법

1) 샘플 제작

지름 6 mm, 길이 15 mm의 멸균된 cylindrical

glass mould에 제조자의 지시대로 혼합한 sealer를 채워서 샘플을 제작하였다(Fig. 2).

2) 세포배양

세포에 따라 세포 배양액은 서로 다르게 사용하였다. KB 세포는 RPMI (Life Technologies, Grand Island, NY, USA), MC-3T3-E1 세포는 α-MEM (Life Technologies, Grand Island, NY, USA), 그리고 PDL 세포는 DMEM (Life Technologies, Grand Island, NY, USA)을 사용하였으며, 조제는 56℃에서 30분간 가열하여 비활성화 시킨 우태아 혈청 (FBS, Hyclone, Logan, Utah, USA)을 10%, penicillin (100 unit/㎖)과 streptomycin (100 ㎍/㎖) 및 300 ㎍/㎖-glutamine을 첨가하여 조제하였다. 세포주는 위의 배양액을 사용하여 37℃, 95% 습도, 5% CO_2 incubator에서 배양하였고, 통상적으로 세포가 plate를 덮을 만큼 자랐을 때 trypsin처리하여 계대 배양을 하였다. 실험에는 3 - 8 계대의 세포들을 사용하였다.

PDL 세포는 primary culture를 통한 사람의 세포를 실험에 사용하였다. 건전한 제 3대구치를 발거 (전북대학교 치과병원 구강악안면외과)하여 즉시 ampicillin이 첨가된 phosphate-beffered saline (PBS)에 담근 상태로 이동하였다. 치근부위의 조직에 접착하여 성장하고 있는 PDL 세포를 핀셋과 칼 등으로 벗겨내어 통상적인 방법으로 배양하였으며, 5 - 10 계대의 세포를 실험에 이용하였다.

3) sealer 용출액 제작

각각의 샘플에 30 ml의 culture medium을 넣고 37℃ incubator에서 1일, 3일, 5일, 7일 동안 보관한 후 filter에 걸러서 sealer 용출액을 만들었다. KB 세포는 RPMI 1640, PDL 세포는 DMEM, MC-3T3-E1 세포는 α-MEM을 medium으로 사용하였다.

4) 세포독성 검사

세포의 proliferation과 survival을 분광학적 방법으로 측정하는 MTT assay를 이용하였다. 먼저 24-well plate에 각각의 세포를 $1x10^5$ 씩 분주시키고 다음날 sealer 용출액으로 24시간, 48시간동안 처리하였다. 이때 한 쪽 well에는 sealer 용출액을 첨가하지 않은 일반 배양액으로 배양시켜 대조군으로 하였다. 3-(4,5-dimrthylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide (MTT) (Sigma, St. Louis, MO, USA) solution을 사용하기 직전에 신선한 medium으로 200 ㎍/ml로 만들어 놓고 각 well에서 medium을 흡입해내고 MTT solution을 1 ㎖씩 첨가하고 plate를 호일로 감싸서 빛을 차단한 상태로 37℃, 5% CO_2 상에서 4시간 배양하였다. 그 후 dimethyl sulfoxide (DMSO) (Sigma, St. Louis, MO, USA)로 생성된 formazan crystal을 녹였으며, 200 ㎕씩 96-well plate에 옮겨 550 ㎚에서 ELISA microplate reader로 흡광도를 측정하였다.

5) 유전자독성 검사

유전자독성은 MC-3T3-E1 세포에서 DNA 손상정도를 comet assay를 이용하여 측정하였다. 1일의 sealer 용출액을 세포에 처리하여 37℃, 5% CO_2 상에서 24시간 동안 배양한다. sealer를 처리한 세포가 함유된 1% low melting point agarose를 냉동된 slide에 깔고 gel이 되도록 약 10분 정도

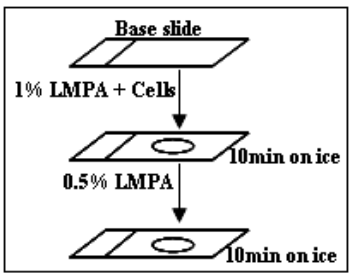


Fig. 3. Preparation of slide

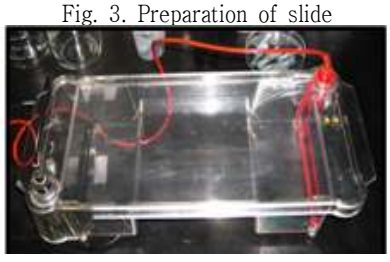


Fig. 4. Alkaline electrophoresis

얼음 위에 위치시킨 후 0.5% low melting point agarose를 그 위에 깔아서 slide를 준비한다(Fig 3). Lysis solution으로 2시간 동안 cell lysis 후 slide를 300 mM NaOH와 1 mM EDTA로 만들어진 alkaline solution에 담가 DNA가 풀어지게 하고. 24 V, 300 mA로 20분간 전기영동 시킨다(Fig 4). 400 mM Trizma buffer (pH=7.5)로 3번 정도 부드럽게 씻어내어 중화한다. 이를 Hoechst 33258 (0.1 ㎎/㎖ in PBS)로 염색하여 형광현미경으로 관찰하였다. 시험군 한 slide당 30개의 세포를 관찰하여 comet의 tail length를 측정하였다.

6) Hoechst 33258 staining

MC-3T3-E1 세포에 sealer 용출액을 24시간 처리하였으며, 세포는 PBS로 2 - 3회 세척 후 1 ㎖ 세포 고정액 (2% formaldehyde, 0.2% glutaraldehyde in PBS)으로 고정시켰다. 고정 된 세포에 Hoechst 33258 (0.1 ㎎/㎖ in PBS)로 염색하여 세포의 형태를 형광현미경상에서 관찰하였다.

7) 통계처리

AH 26과 ADSEAL의 세포독성과 유전자독성을 student *t*-test로 통계처리하여 비교하였다.

Ⅲ. 결 과

1. 세포독성 검사 결과

AH 26과 ADSEAL이 나타내는 세포독성을 MTT 측정을 통하여 검토하였다. 각 실험 세포별로 sealer 용출액을 처리하지 않은 대조군에 대한 1일, 3일, 5일, 7일의 sealer 용출액을 처리한 세포의 cell viability를 그래프로 나타냈다(Fig 5, 6, 7). KB 세포에서 AH 26은 강한 세포독성을 보였고, 이에 비해 ADSEAL은 세포독성이 훨씬 적었다. 따라서 Fig 5의 생존세포수의 비율은 AH 26에서는 거의 나타나지 않았으며, 반면 ADSEAL은 65% 정도의 세포가 생존하였다. 또한 이들 두 시료의 추출 시간에 따른 세포 독성에는 거의 차이가 보이지 않았다. PDL 세포에서도 AH 26에 비해 ADSEAL이 세포독성이 훨씬 적었다. MC-3T3-E1 세포에서도 ADSEAL이 적은 세포독성을 보였다. 종합적으로 ADSEAL이 AH 26에 비해 유의성 있게 적은 세포독성을 나타냈다($p<0.05$).

Table 2. The comet assay of AH 26 and ADSEAL

	Tail length (uM)
Control	0 ± 2.3
AH 26	41.6 ± 10.2
ADSEAL	7.5 ± 9.1*

(*$p < 0.01$, students *t*-test)

2. 유전자독성 검사

MC-3T3-E1 세포에서 AH 26과 ADSEAL은 유전자독성이 나타났으나 ADSEAL이 유의성 있게 독성이 낮게 나타났다($p<0.01$). 형광현미경상에서 대조군에 비해 AH 26은 혜성과 같이 긴 tail이 관찰되었고 ADSEAL은 이보다 훨씬 적은 tail length를 보였다(Fig 8). 측정한 comet의 tail length를 Table 2에 정리하였다.

3. Hoechst 33258 staining

MC-3T3-E1 세포에 AH 26을 처리한 세포는 대조군의 세포에 비해 전체적인 세포 모양이 찌그러들고 핵이 분절되었으며 apoptotic body들이 관찰되었다. 이에 비해 ADSEAL을 처리한 세포는 핵의 모양이 약간 변하기는 하였으나 그 정도가 매우 미약하였다(Fig 9). 이는 AH 26 sealer의 독성이 세포에 apoptosis를 유도함을 의미한다.

Ⅳ. 고 찰

Root canal sealer의 생체 적합성은 근관치료에서 중요한 역할을 한다. 이런 충전물의 주변 조직으로의 직접적인 접촉은 세포 변성과 치유 지연을 일으킬 수 있다. 생체 적합한 root canal

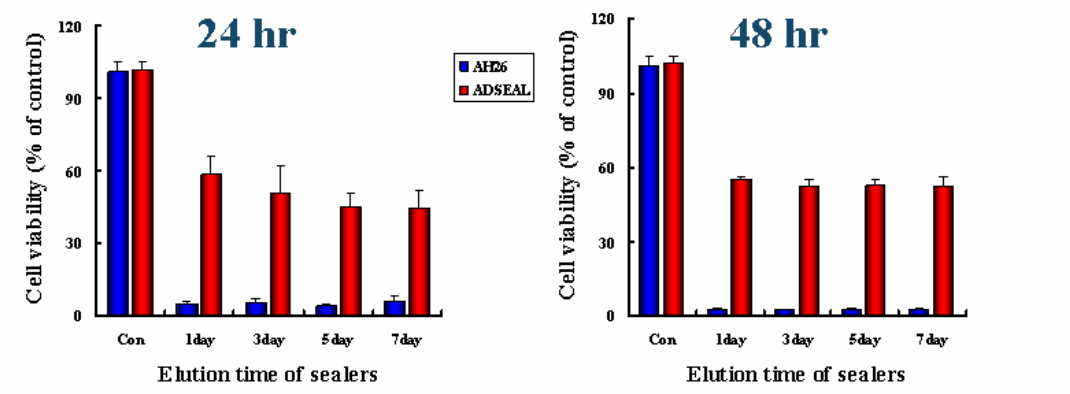


Fig. 5. Effect of elutes of AH 26 and ADSEAL on KB cells

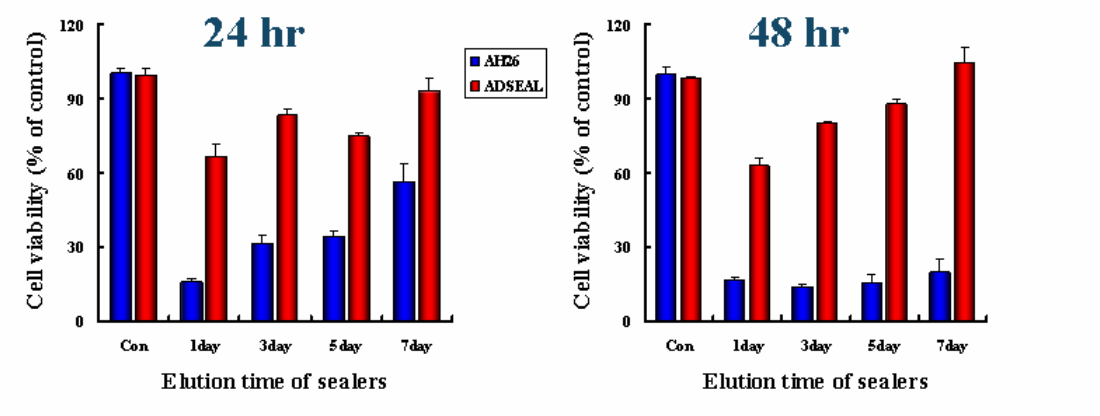


Fig. 6. Effect of elutes of AH 26 and ADSEAL on PDL cells

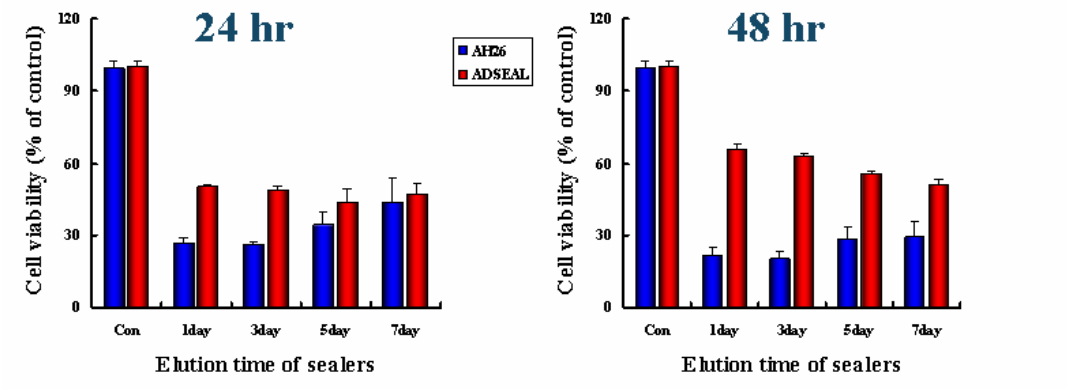


Fig. 7. Effect of elutes of AH 26 and ADSEAL on MC-3T3-E1 cells

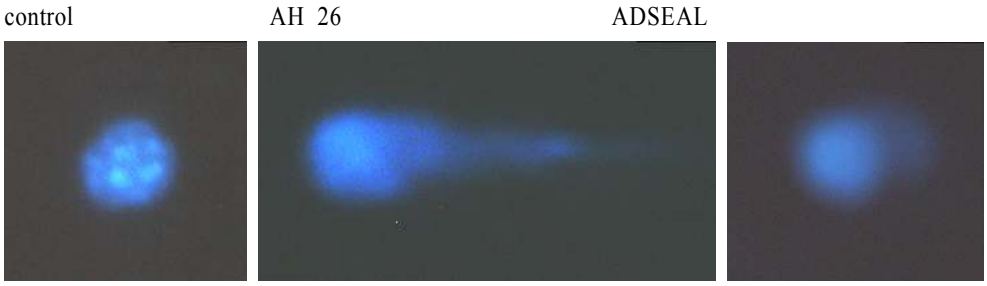


Fig. 8. The genotoxicity of AH 26 and ADSEAL on MC-3T3-E1 cells by comet assay

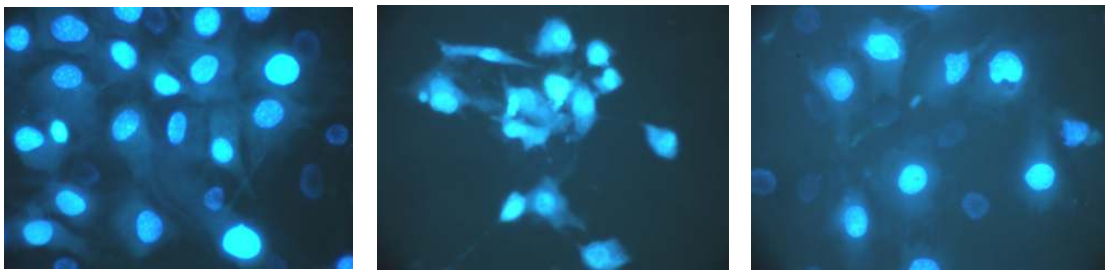


Fig. 9. Hoechst 33258 staining of AH 26 and ADSEAL

sealer는 조직의 치유 과정을 방해하거나 지연시켜서는 안 되며 파괴된 주변 조직의 재생과 회복 과정을 도와야 할 것이다[2,14]. 근관충전 후 시간에 따라 root canal sealer가 붕괴되면 구강내에서 상아세관이나 치근단을 통해 주변 조직 즉, 치아 주변의 치주인대, 치조골, 신경, 혈관 등으로 그 성분들이 누출되어 영향을 받을 수 있다[15]. 이번 연구에서 생체 적합성 평가를 위한 실험 세포로 human periodontal ligament cell과 mouse osteoblast 등을 이용한 것은 이러한 임상적 조건을 고려한 것이다.

Root canal sealer의 생체 친화성을 평가하기 위해 다양한 방법들이 사용되어 왔다. 간단하게 culture medium으로 sealer를 용출시켜서 평가하는 방법이 가장 많이 이용되고 있다. ISO에서는 이러한 연구에 대한 지침으로 sealer의 샘플을 culture medium에 1-3일 정도 보관해야 하며 표면적과 culture medium의 비율이 0.5-6.0 ㎠/㎖가 되어야 한다는 기준을 제시하고 있다[16]. MTT assay는 1983년 Mosmann[17]에 의해 처음 소개되었으며 살아 있는 세포의 수를 분광학적 방법으로 측정하는 것이다. 살아있는 세포에서 methyl-tetrazolium ring이 미토콘드리아의 가수분해효소에 의해 formazen을 형성하고 이를 spectrophotometer로 측정한다. 이는 치과 재료의 세포독성 측정을 위한 섬세한 방법으로 간주 된다[18,19]. 간편하고 빠르며 정확하다는 장점을 지니며 방사성 동위원소도 필요치 않다[2]. Comet assay는 DNA 손상 정도를 평가하기 위해 비교적 최근 개발된 방법으로 포유류 세포에서 DNA 손상을 정량화하는 빠르고 섬세한 생화학적 기술이다[10,20,21]. DNA가 손상을 받게 되면 이중나선, 단일나선이 깨져서 생겨난 DNA의 작은 조각들이 알칼리성 조건의 전기영동 과정에서 건전한 DNA에 비해 전기장에서 더 많이 이동하여 head와 tail 부분이 있는 “comet”과 유사한 형태로 나타나게 된다[22].

이번 연구에서는 root canal sealer를 혼합하고 즉시 medium에 위치시켜 실험하였는데 실질적으로 임상에서도 경화가 불완전하게 일어난 상태로 구강 내에 적용되게 되므로 좀 더 임상적 상황을 반영한 것으로 볼 수 있다. 임상 적용 후 비교적 짧은 기간의 국소 반응은 반응하지 않았거나 일부 반응한 성분들에 의해 유발된다고 할 수 있다. 경화가 일어난 후에도 독성 물질들이 유출될 가능성이 있다. 그러므로 root canal sealer는 혼합 시점에서부터 최종 화학 성분에 도달한 후까지 검사되어져야 할 것이다[2]. 이번 세포독성 검사 결과 다양한 용출 시간에 따라 독성의 양상이 다른 것도 root canal sealer의 경화 정도와 연관된 것 일 수 있다.

다양한 in vitro와 in vivo 실험에서 resin-based root canal sealer인 AH 26은 강한 세포독성을 보인다고 보고되고 있다[23-28]. 이번 연구에서도 AH 26은 강한 세포독성을 보이는 것으로 나타났다. 실험한 모든 세포에서 세포독성을 보였고 특히 human oral cancer cell (KB)에서는 세포 생존율이 극히 적었다. 이러한 AH 26의 강한 세포독성은 초기 경화 기간에 방출되는 formaldehyde가 중요 요인으로 보고되고 있다[29]. AH 26의 powder 성분 중 methenamine이 ammonia와 formaldehyde로 가수분해 된다[30]. 또한 liquid 성분인 bisphenol-A-diglycidylether도 독성과 관련이 있고 경화된 물질에서도 발견되어 진다[31,32]. 포유류 세포에 대한 in vitro mutation assay에서 diglycidyl ether가 독성의 중요 요인으로 밝혀졌다[25].

ADSEAL은 같은 resin-based root canal sealer이나 본 연구에서 AH 26과 비교시 유의성 있게 낮은 세포독성을 나타내었다. 특히 Human periodontal ligament cell은 전반적으로 다른 실험 세포에 비해 생존율이 높아 root canal sealer의 독성 영향을 덜 받는 것으로 보이나 이에 대해서는 더 많은 연구가 필요할 것으로 사료된다. ADSEAL에 대한 다른 연구에서도 이번 결과와 유사하게 낮은 세포독성을 보고하고 있다. 김 등은 쥐의 피하조직에 매식한 sealer에 대한 연구에서 유의성은 없었으나 ADSEAL이 가장 낮은 염증 반응을 유발한다고 하였고[33], 박 등은 sealer을 처리한 세포의 생존율과 Giemsa stain 염색을 통한 세포 양상을 연구하였는데 다른 root canal sealer들보다 ADSEAL이 가장 낮은 세포독성을 보인다고 보고하였다[34]. 또한 2004년 김 등의 한천평판을 이용한 세포독성실험에서도 ADSEAL이 낮은 세포독성을 보였다[35]. 이러한 ADSEAL의 생체 친화성은 calcium phosphate를 첨가하여서 가능한 것으로 추측 된다[34,35]. Calcium phosphate는 생체 적합성이 우수하고 골 유도 효과가 있는 물질이다. 이런 높은 생체 친화성으로 부주의하게 근단공 밖으로 나가게 되더라도 주변 조직으로부터 불활성 상태로 남게 된다[34,36,37]. 그리고 poly aminogenzoate를 curing agent로 사용하는데, 이것은 monomer보다 덜 자극적인 polymer의 종류이다[33].

이번 연구의 목적은 유전자독성도 알아보는 것이었는데 세포독성이 유전자독성을 반영하는 것은 아니다. Root canal sealer의 돌연변이 유발성이나 유전자독성에 대해서는 연구가 미흡하다. Comet assay를 통한 이번 유전자독성 연구에서 AH 26은 긴 tail length를 보여 유전자독성을 보이는 것으로 나타났고 ADSEAL은 유의성 있게 적은 유전자독성을 보였다. Schweikl 등은 AH 26에 대해 V79/HGPRT 포유류 세포 연구에서 혼합 후 24시간째에 돌연변이 효과를 보였으나 1주일 안에 유의하게 감소한다는 것을 발견하였다[25]. Ersev 등은 AH 26이 진핵 세포, 원핵 세포에 돌연변이성을 보였으며 이는 liquid 성분인 bisphenol-A-diglycidylether와 formaldehyde에 기인한다고 보고하였다[24]. Huang 등도 comet assay를 이용해 여러 sealer의 유전자독성을 연구하였는데, resin-based root canal sealer에서 높은 DNA 손상이 유발됨을 보고하였다[38].

그동안 root canal sealer의 독성에 초점을 맞춘 연구들은 많이 있어 왔지만 세포학적 영향과 독성의 기전에 대해서는 많이 알려지지 않았다. 외부 유해물질에 노출된 세포는 두 종류의 변화를 겪게 된다. 하나는 programmed cell death인 apoptosis이며 다른 하나는 reproductive cell death인 necrosis이다. Necrosis가 일어나면 세포는 팽창되며 막은 파괴되고 구조물의 용해가 일어난

다. Apoptosis와 관련된 세포의 형태 변화로는 세포가 응축되며 세포질과 핵은 분절되지만 다른 기관은 유지되는 특징을 보인다[39]. 이번 연구에서 높은 세포독성과 유전자독성을 보였던 AH 26 sealer에 대해 세포 변화를 관찰하였는데 apoptosis가 유도됨을 확인하였다. 이러한 독성의 기전에 대해서는 cell signal molecule 등을 통한 더 깊은 연구가 필요할 것으로 사료된다.

V. 결 론

본 연구는 resin-based root canal sealer중 현재 임상에서 많이 사용되는 AH 26과 최근 개발된 ADSEAL의 생체 적합성을 평가해 보고자 MTT assay와 Comet assay, Hoechst 33258 staining을 시행한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. ADSEAL은 다른 resin-based root canal sealer, AH26보다 유의성 있게 적은 세포독성을 나타내었다($p<0.05$).
2. ADSEAL은 다른 resin-based root canal sealer, AH26보다 유의성 있게 적은 유전자독성을 나타내었다($p<0.01$).
3. AH 26은 높은 세포독성과 유전자독성을 나타냈는데, 이는 세포에 apopotosis를 유도한다.

참 고 문 헌

1. Grossman LI : Root canal therapy, Philadelphia, 1940, Lea & Febiger. p189
2. F.-M. Huang, K.-W. Tai, M.-Y. Chou, Y.-C. Chang : Cytotoxicity of resin-, zinc oxide-eugenol-, and calcium hydroxide-based root canal sealers on human periodontal ligament cells and permanent V79 cell. *Int Endod J* 35:153-158, 2002
3. Quinlan CA, Zisterer DM, Tipton KF, O'Sullivan MI : In vitro cytotoxicity of a composite resin and compomer. *Int Endod J* 35:47-55, 2002
4. Spangberg L, Langeland K : Biologic effects of dental materials 1. Toxicity of root canal filling materials on HeLa cells in vitro. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 35:402, 1973
5. Pascon EA et al : Tissue reaction to endodontic materials : methods, criteria, assessment, and observations. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 72:222, 1991
6. DeDenus QD : Frequency, location and direction of the lateral secondary and accessory canals. *J Endod* 1:361-366, 1975
7. Dongri A, Lambrians T : Periodontally derived pulpal lesion. *Endod Dent Traumatol* 4:49-52, 1988
8. Schmatz G : Concepts in biocompatibility testing of dental restorative materials. *Clin Oral Invest* 1:154-162, 1997
9. Leyhausen G, Heil J, Reifferscheid G, Wailmann P, Geurtsen W : Genotoxicity and cytotoxicity of the epoxy resin based root canal sealer AH plus. *J Endod* 25:109-113, 1999
10. Miyamae Y, Zaizen K, Ohara K, Mine Y, Sasaki YF : Detection of DNA lesions induced by chemical mutagens by the single cell gel electrophoresis (comet) assay. 1. Relationship between the onset of DNA damage and the characteristics of mutagens. *Mutat Res* 415:229-235, 1998
11. Tagger M, Taffer E, Kfir A : Release of calcium and hydroxyl ions from set endodontic sealers containing calcium hydroxide. *J Endod* 14:588, 1988
12. Tronstad L, Barnett R, Flax M : Solubility and biocompatibility of calcium hydroxide-n-containing root canal sealers. *Endod Dent Traumatol* 4:152, 1988
13. T. Schwarze, I. Fiedler, G. Leyhausen, W. Geurtsen : The cellular compatibility of five endodontic sealers during the setting period. *J Endod* 28:784-786, 2002
14. Saud Al-Awadhi, Robert Spears, James L. Gutmann, Lynne A. Opperman : Cultured primary osteoblast viability and apoptosis in the presence of root canal sealers. *J Endod* 30:527-533, 2004
15. Tsui-Hsien Huang, Jaw-Ji Yang, Huei Li, Chia-Tze Kao : The biocompatibility evaluation of epoxy resin-based root canal sealers in vitro. *Biomater* 23:77-83, 2002
16. Jean Camps, Imad : Cytotoxicity testing of endodontic sealers: A new method. *J Endod* 29:583-586, 2003
17. Mosmann T : Rapid colorimetric assay for cellular growth and survial : application to proliferation and cytotoxicity assays. *J Immunol Method* 65:55-63, 1983

18. Schweikl H, Schmalz G : Toxicity parameters for cytotoxicity testing of dental materials in two different mammalian cell lines. *Eur J Oral Sci* 104:292-299, 1996
19. Osori RM, Hefti A, Vertucci FJ, Shawley AL : Cytotoxicity of endodontic materials. *J Endod* 24:91-95, 1998
20. Singh NP, McCoy MT, Tice RR, Schaeider EL : A simple technique for quantification of low levels of DNA damage in individual cells. *Exp Cell Res* 175:184-191, 1988
21. Tice RR, Agurell E, Anderson D, et el : Single cell gel/comet assay: guidelines for in vitro and in vivo genetic toxicology testing. *Environ Mol Mutagen* 35:206-221, 2000
22. Olive PL, Banath JP, Durand RE : Heterogeneity in radiation-induced DNA damage and repair in tumor and normal cells measured using the comet assay. *Radiat Res* 112:86-94. 1990
23. Mittal M, Chandra S : Comparative tissue toxicity evaluation of four endodontic sealers. *J Endod* 21:622-624, 1995
24. Ersev H, Schmalz G, Bayirli G, Schweikl H : Cytotoxicity and mutagenic potencies of various root canal filling materials in eukaryotic cells in vitro. *J Endod* 25:359-363, 1999
25. Schweikl H, Schmalz G, Stimmelmayer H, Bey B : Mutagenicity of AH 26 in an in vitro mammalian cell mutation assay. *J Endod* 21:407-410, 1995
26. Guigand M, Pellen-Mussi P, Le Goff A, Vulcain JM, Bonnaure-Mallet M : Evaluaton of the cytocompatibility of three endodontic material. *J Endod* 25:419-423, 1999
27. Briseno BM, Willershausen B : Root canal sealer cytotoxicity on human gingival fibroblasts. Part II. Silicone- and resin-based sealers. *J Endod* 17:537-540, 1991
28. Cohen BI, Pagnillo MK, Musikant BL, Deutsch AS : The evaluation of apical leakage for three endodontic fill systems. *Gen Dent* 46:618-623, 1998
29. Spangberg LSW, Barbosa SV, Lavigene GD : AH 26 release formaldehyde. *J Endod* 19:596-598, 1993
30. Moch MJ : Formaldehyde release from root canal sealers: influence of method. *Int Endod J* 32:10-16, 1999
31. Geurtsen W, Leinenbach F, Krage T, Leyhausen G : Cytotoxicity of four root canal sealers in permanent fibroblast cultures. *Oral Surg* 85:592-597, 1998
32. Koulaouzidou EA, Papazisis KT, Beltes P, Geromichalos GD, Kortsaris AH : Cytotoxicity of three resin-based root canal sealers: an in vitro evaluation. *Endod Dent Traumatol* 14:182-185, 1998
33. 김용범, 백승호, 배광식 : 신개발 레진 계열 봉함재의 생체친화성에 관한 연구. *대한치과보존학회지* 27:122-134, 2002
34. 박소영, 이우철, 임성삼 : 새로운 레진 계통의 근관봉함재의 독성과 항균작용에 관한 연구. *대한치과보존학회지* 28:162-168, 2003
35. 김희정, 백승호, 이우철, 박한수, 배광식 : 레진 계열 근관봉함재 Adseal의 세포독성에 관한 연구. *대한치과보존학회지* 29:498-503, 2004
36. Chohayeb AA, Chow LC, Tsaknis PJ : Evaluation of calcium phosphate as a root canal sealer-filler material. *J Endod* 13:384-387, 1987
37. Sugawara A, Nishiyama M, Kusama K, Moro I, Nishimura S, Kudo I, Chow LC, Takagi S : Histopathological reactions of calcium phosphate cement. *Dent Mater J* 11:11-16, 1992
38. Tsui-Hsien Huang, Huei Lee, Chia-Tze Kao : Evaluation of the genotoxicity of zinc oxide eugenol-based, calcium hydroxide-based, and epoxy resin-based root canal sealers by comet assay. *J Endod* 27:744-748, 2001
39. Tsui-Hsien Huang, Shinn-Jyh Ding, Ting-Zen Hsu ; Root canal sealer induce cytotoxicity and necrosis. *J Mater Sci* 15:767-771, 2004

Corresponding Author: Mi-Kyung Yu
Department of Consevative Dentistry, School of Dentistry, Chonbuk National University
Geumam-Dong, Deokjin-Gu, Jeonju, Jeonbuk, 561-712, Korea
Tel: 82-63-250-2045, Fax: 82-63-250-2049, E-mail: mkyou102@hanmail.net

- ABSTRACT -

The Biocompatibility Evaluation of Resin-Based Root Canal Sealers

Hyoung-Sun Kim,Seong-Min Chon,Jhong-Hyun Moon,Kwang-Won Lee, Mi-Kyung Yu*

Department of Dentistry, School of Dentistry, Chonbuk National University

I. Objective

The primary requirement of an endodontic root canal sealer is the biologic compatibility, because they remain in close contact with living periapical tissues over a long period of time. The aim of this study was the evaluation of cytotoxicity and genotoxicity of resin-based root canal sealers, AH 26 and ADSEAL.

Ⅱ. Material & Methods

In this study, human periodontal ligament cells, human oral cancer cells (KB) and mouse osteoblasts (MC-3T3-E1) were used. Specimens of AH26, ADSEAL were eluted with culture medium for 1, 3, 5 and 7 days. Cytotoxicity was evaluated by using tetrazolium bromide reduction assay (MTT assay) for mitochondrial enzyme activity and cell viability. Genotoxicity was evaluated by using alkaline single cell gel electrophoresis assay (Comet assay). Also cell apoptosis induced by AH 26 was detected by Hoechst33258 staining.

Ⅲ. Results

AH 26 and ADSEAL exhibited cytotoxic effects in all investigated cell groups. Genotoxicity was also noted for both sealers in mouse osteoblasts (MC-3T3-E1). But, ADSEAL presented significantly low cytotoxicity and genotoxicity compared with AH 26. Cytotoxicity and genotoxicity induced by AH 26 resulted in apopotosis.

Ⅳ. Conclusion

Our results clearly indicate that the recently invented ADSEAL has better biocompatibility than another resin based root canal sealer, AH 26. However ideal root canal sealer should have not only biocompatibility but also satisfactory physico-chemical properties such as sealing ability and stability. Thus continuous studies and developments should follow.