



Original Article

치수염 모델에서 MTA 시멘트 처리를 통한 삼차신경절 감각 완화

이경희¹

동서대학교 치위생학과

Attenuation of trigeminal ganglion sensitization by mineral trioxide aggregate treatment in a pulpitis model

Kyung Hee Lee¹

Department of Dental Hygiene, Dongseo University

Corresponding Author: Kyung Hee Lee, Department of Dental Hygiene, Dongseo University, 47 Jurye-ro, Sasang-gu, Busan-si, 47011, Korea. Tel: +82-51-320-2730, Fax: +82-51-320-2752, E-mail: kyhee@dongseo.ac.kr

ABSTRACT

Objectives: To evaluate the effects of mineral trioxide aggregate (MTA) application after pulp injury amplified excitability in the trigeminal ganglion (TG) using electrophysiological optical imaging. Beyond simple pulp shielding, the therapeutic potential of MTA lies in inhibiting pain-related signal transmission and alleviating ganglion-level sensitization associated with pulpitis pain. **Methods:** Pulpitis was induced using allyl isothiocyanate in C57BL/6 mice. MTA was applied to the exposed pulp after pulp injury. Neuronal activity in the TG was recorded using voltage-sensitive dye-based optical imaging. The expression of inflammation-related molecules and pain-associated pathways protein was evaluated by western blot analysis. **Results:** Optical imaging demonstrated that the MTA-treated group showed markedly reduced spatiotemporal neural activity compared with the pulpitis group. The activated area was also reduced, indicating attenuation of pulpitis-induced TG sensitization. In the TG, the pulpitis group exhibited significantly increased expression of the inflammatory pain factors. TRPV1 and pERK, which are associated with pain sensitization, compared with the control group. In contrast, the MTA-treated group showed significantly reduced expression of these pain-related proteins. **Conclusions:** These findings suggest that MTA may serve as an effective therapeutic strategy in root canal treatment and in reducing pain-related signaling activity.

Keywords: MTA cement, Pain, Pulpitis, Sensitization, Trigeminal ganglion

주요어: 치과용 시멘트, 통증, 치수염, 감각, 삼차신경

서론

치수염(Pulpitis)은 치아 우식, 외상, 시술 후 자극 등으로 유발되는 염증성 통증 질환으로, 경질의 상아질로 둘러싸여 있는 치수는 경미한 부종과 염증 세포 침윤조차도 조직 내 압력을 증폭시키고 통각 수용체 말단을 민감하게 하기 때문에 급성 통증뿐 아니라 기계적, 열적 과민을 유발하여 환자의 삶의 질을 매우 저하시킨다. 이러한 치수의 염증은 말초 염증 매개물 증가와 함께 구심성 신경의 흥분증가 및 신경염증을 통한 통증의 증폭에 따른 삼차신경계(Trigeminal system)의 감각이 가장 크게 관여한다[1-3]. 삼차신경계는 구강안면통증(Oral/orofacial pain)의 주요 감각 전달로 역할을 하며, 삼차신경절(Trigeminal ganglion, TG)의 염증 상태는 신경 세포의 흥분성을 변화시키고 통각 촉진성 신경펩타이드의 분비를 증폭시키며 신경교세포 활성화로 인한 사이토카인 신호전달의 변화로 이어져 통증을 지속 및 확대시킨다. 또한, 삼차신경절에서는 대식세포 등 면역세포의 극성 변화 및 염증 반응이 통증과 연관된다[4,5].

치수염 발생 시 통증 신호의 증폭에는 일시적 수용체 전위(Transient receptor potential, TRP) 채널은 이온통로 중요한 역할을 한다. 특히, TRPA1은 치수 염증 환경에서 생성되는 다양한 화학적 자극 및 활성산소종(Reactive oxygen species, ROS)에 의해 활성화되어 삼차신경세포의 탈분극과 신경세포 감작(Sensitization)을 유도하는 것으로 알려져 있다[6]. TRPA1 증폭은 산화적 스트레스(Oxidative stress)와 연결되어 TRPA1-ROS 축을 통한 신호 증폭은 말초 감각을 유지하는 핵심 기전이나[7], MTA와 같은 생체활성 시멘트 적용이 이러한 삼차신경절 내 TRP 매개 통증 신호 체계에 미치는 직접적인 억제 효과에 대해서는 규명된 바가 적다. 삼차신경절에서 ERK 인산화(pERK)는 초기 신경활성 및 감각 표지 인자로 ERK 경로가 중요한 기전으로 알려져 있으며, 이전 연구에서 Nav1.7(Voltage-gated sodium (Na^+) channel 1.7)이 삼차신경절에서 ERK 신호를 촉진해 치수염 통증 유도에 관여함이 보고되었다[8]. 또한, Chung 등[9]에 의하면 치수염에서 삼차신경절의 TRPV1 발현이 증가하며, 이는 TRPA1과 함께 TRPV1을 포함한 TRP 채널 네트워크 변화가 치수 통증을 증폭에 관여할 가능성을 의미한다.

임상에서 주로 사용되는 치수치료용 시멘트는 MTA (Mineral trioxide aggregate), Biodentine (Calcium silicate-based cement), CEM (Calcium-enriched mixture cement)등으로 Vital pulp therapy(VPT)에서 MTA와 Biodentine을 포함한 칼슘실리케이트계는 치수보존 성공률이 높고 통증도 대체로 감소시킨다는 보고가 있으며[10], Biodentine은 조작성이 좋고 세팅 타임이 빠르지만, MTA는 상대적으로 더 긴 시간 동안 이온을 방출하며 임상적 신뢰도가 높다[11]. 특히, MTA는 우수한 밀봉력과 탁월한 법랑질 재광화 유도 성능을 가지고 있고, 타 재료 대비 풍부한 칼슘 이온 방출과 장기적인 임상 성공 데이터가 축적된 재료이다. MTA는 수화 과정에서 지속적인 칼슘 이온(Ca^{2+}) 방출과 강알칼리성 환경을 조성하며, 이는 단순한 살균 효과를 넘어 주변 신경 조직의 이온 통로 반응에 영향을 미칠 가능성이 크다[12]. 그중 MTA는 수용성 칼슘실리케이트 계열 재료로서 치수 치유 및 통증 감소와 관련된 임상 및 전임상 관련한 보고들이 있다[13-16]. 그러나 MTA가 제공하는 강알칼리성 환경과 이온 방출 특성이 치수 내 신경 말단뿐만 아니라, 통증 신호 전달의 중추적 역할을 하는 삼차신경절 수준의 감작에 구체적으로 어떤 영향을 주는지에 대한 근거는 여전히 부족한 실정이다. 기존 연구들의 대다수는 시멘트의 밀봉 및 조직 재생과 치수 치유 관점에서 논의되었으나, 염증이 이미 유발된 이후 시멘트 적용이 삼차신경절 수준의 감작 신호기전 및 신경 흥분성에 어떠한 영향을 주는지는 충분히 규명되지 않았다.

따라서 본 연구는 AITC로 유발된 치수염 모델에 치수손상 후 MTA를 적용하여, 국소 자극 차단 효과와 더불어 전기생리학적 광영상(Optical imaging) 기능 평가를 통해 삼차신경절의 흥분성 증폭 여부를 관찰하고자 한다. 또한, 삼차신경절에서 TRPV1-ROS 축의 음성 피드백 및 통증 관련 분자생물학적 신호기전을 확인하고자 한다. 이를 통해 MTA가 단순한 치수의 차폐재를 넘어 통증 관련 신호전달 억제와 염증성 치수 통증을 신경절 수준 감작을 완화하는 치료적 가능성을 확인하고자 한다.

연구방법

1. 실험동물

모든 실험은 C57BL/6 마우스 7주령(18-23 g, Koatech, Pyeongtaek, Korea)을 사용하였으며, 총 30마리를 사용하였다(전기생리학 3개 그룹, 조직학 3개 그룹, 각 실험의 그룹당 n=5). 본 연구는 연세대학교 의과대학 동물실험 윤리위원회 (IACUC 승인번호 A2024-0182)의 승인을 받아 실시하였다. 사육 환경은 12시간 주기로 명암이 바뀌고, 사료와 물은 자유롭게 제공되는 자유섭식 조건에서 사육되었다. 마취제는 펜토바비탈 (Pentobarbital, 75 mg/kg)을 이용하여 복강 내 주입하고, 실험 동물을 각 실험에 사용하였다.

2. 치수염 모델 제작 및 시멘트 처리

마우스의 왼쪽 상악 제1대구치(M1)에 저속 치과용 드릴을 사용하여 치수를 노출한 후 치과용 페이퍼 포인트(dental paper point; 직경 0.15 mm, 길이 20 mm)에 AITC(Sigma-Aldrich, Milwaukee, WI, US)를 담근 후, 노출된 치수에 끼워 1분간 도포하여 치수 염증을 유발하였다. 실험군은 AITC 도포하여 치수 염증을 유발한 후 EndoSeal MTA (white; Maruchi, Wonju, Republic of Korea)를 노출된 치수에 주입하여 수복하였다. 즉, 치수만을 노출시키고 식염수를 염증을 유도하는 AITC 대신 사용한 대조군(Normal 군; n=10), 염증 유도한 치수염 실험군(Pulpitis 군; n=10), 치수염 유발 후 MTA를 처리한 실험군(Pulpitis + MTA 군; n=10)으로 나누어 진행하였다. 모든 실험은 실험동물 사용을 최소화하기 위한 조건하에서 수행되었다.

3. 전기생리학적 광영상기법

광영상 이미지로 약물처리에 따른 통증 유발 억제 정도를 확인하기 위해 삼차신경절의 자극에 따른 전기생리학적 변화를 관찰하였다. 치수염증 유도 3일 후 마우스를 마취하고, 인공 뇌척수액(Artificial cerebrospinal solution, aCSF)에 5% CO_2 /95% O_2 로 충분히 기포화시킨 용액

을 사용하여 삼차 신경을 적출하여 37°C에서 1시간 동안 안정화시켰다. 그 후, 친수성 신경막 전위차 염색제(Voltage sensitive dye, VSD)인 Di-2-ANEPEQ (50 mg/ml, Molecular Probes, Eugene, OR, USA)로 1시간 염색하고, 인공 뇌척수액으로 세척 후 조직을 안정화하는 과정을 진행하였다. Bipolar electrode를 이용하여 200 ms delay, 1 ms pulse, 3 sec stimulation interval, 0.1-1 mA stimulus intensity로 삼차 신경 자극을 하였다. 삼차신경절의 표면에 수직으로 고해상도 CCD 카메라의 축을 위치시키고, 신경막 전위차 염색제의 형광 변화는 최대 프레임당 3.7 ms로 MicAM02 시스템(BrainVision, Tokyo, Japan)을 이용하여 고해상도 CCD 카메라로 신경세포 활성을 시각화하여 나타내었다. 각 실험군들의 활성화된 영역과 진폭은 0.5 mA의 전기 자극에 의해 나타난 획득된 광영상 이미지를 1×대물렌즈와 0.63×프로젝션 렌즈(Leica Microsystems Ltd., Wetzlar, Germany)를 이용하여 192×128 픽셀의 detector array로 생성하였다. 각 활성화 정도를 나타내는 컬러 이미지(빨간색과 초록색)에 대한 활성화 영역을 분석하였다. 캡처된 이미지로 변환된 영역을 백분율인 활성화 영역/전체 캡처 영역×100로 나타내었다. 각 실험 데이터는 MetaMorph software(Universal Imaging Co., Downingtown, PA, USA)를 사용하여 비교·분석하였다.

4. 분자생물학적 실험

각 실험군의 표적 삼차신경절을 적출하여 채취한 후, 즉시 액체질소로 급속 동결하였다. 액체질소로 동결한 삼차신경 조직을 파쇄한 후 Lysis buffer (PRO-PREP; Intron Biotechnology, Pyeongtaek, Korea)를 첨가한 Phosphatase and protease inhibitors (PhosSTOP; Roche, Mannheim, Germany)로 초음파 파쇄하여 균질화하였다. 4°C에서 13,000×g로 15분간 원심분리하고 상층액을 회수하여 분리된 단백질을 SDS-PAGE로 전기영동하였다. PVDF membrane (Merck Millipore, Darmstadt, Germany)에 분리된 단백질을 옮겨 5% bovine serum albumin이 포함된 용액으로 실온에서 1시간 동안 처리하였다. 1차 항체로 anti-ERK(4376S, 1:1000; Cell Signaling, Danvers, MA, USA), anti-pERK (4376S, 1:1000; Cell Signaling), anti-TRPV1(NB110-40763, 1:1000; NovusBio, Centennial, CO, USA), β -actin 항체(1:10,000; Cell Signaling)를 사용하여 4°C에서 16시간 이상 처리하였다. 이차 항체 anti-rabbit/mouse IgG (1:10,000; Cell Signaling)로 membrane을 20°C에서 2시간 반응시켰다. ECL plus kit (GE Healthcare, Little Chalfont, UK)인 chemiluminescent detection system로 반응시킨 membrane을 발색하여 LAS 시스템(LAS 4000; GE Healthcare)을 이용하여 반응한 특정 단백질을 각 그룹당 비교 및 분석하였다.

5. 자료분석

모든 실험데이터는 평균 \pm 표준오차(mean \pm SEM)로 제시하였다. 실험군 간의 유의성 비교는 비모수 검정법인 Kruskal-Wallis test를 수행하였으며, 사후 검정은 Mann-Whitney U test를 실시하여 그룹 간 차이를 비교 및 분석하였다. 통계 분석 프로그램은 SPSS software(ver. 23.0; IBM Corp., Armonk, NY, USA)를 사용하였으며, $p < 0.05$ 일 때 통계적으로 유의하다고 판단하였다.

연구결과

1. 삼차신경절의 MTA 처리에 따른 통증 완화

신경막 전위차 염색제를 이용한 광영상법으로 치수염에서 유발되는 삼차신경절 신경활성 변화를 평가하였다. 대구치 치수 유래 삼차신경절의 세포막 전위 변화($\Delta F/F$)에 따른 신경세포 활성화를 시·공간적 변화 정도로 비교 및 분석하였다. Representative VSD 광영상 이미지에서 치수염을 유발하지 않은 대조군에서는 0.5 mA 전기자극에 의해 신경세포 활성화가 자극 부위에 국소적으로 제한되어 나타난 반면, 치수염 그룹에서는 삼차신경의 활성화가 더 강하게 유도되어 주변으로 광범위하게 확산되는 양상을 보였다. 특히 고활성화 부위(붉은색과 노란색)와 중등도 활성화 부위(초록색) 신호가 치수염 군에서 더 지속적이고 넓게 분포됨이 시·공간 이미지로 관찰되어 흥분성 신경세포 활성화 정도가 심하다는 것을 확인하였다. 치수염 유발 후 MTA 처리그룹에서는 시·공간 이미지에서 신경활성화 정도가 다소 줄어드는 양상을 보였으며, 고활성도 부위가 줄고 중등도 활성화 부위의 신호도 공간적으로 약해져 유발된 신경세포 활성이 감소됨을 관찰하였다(Fig. 1A). 자극에 대한 각 그룹의 신경세포 반응 비교 그래프에서 대조군에 비해 치수염 그룹에서 크게 활성화되는 신경세포 반응을 보였으며, MTA 처리 그룹에서는 보다 낮아진 신경세포 활성화를 통해 반응이 다소 감소됨을 확인하였다(Fig. 1B). 각 그룹의 $\Delta F/F$ 의 peaked value(피크 값) 변화 비교 시, 삼차신경절의 신경세포 흥분성에 있어서 치수염 군에서는 0.86 ± 0.03 이며 대조군에서는 0.24 ± 0.05 로 확인되어 치수염이 유발된 경우 동일 자극에 대해서 더 큰 신경세포 반응이 관찰되었으나 ($p < 0.01$), MTA (0.64 ± 0.07)를 치수염 유발 후 처리한 그룹에서 삼차신경절의 신경세포 활성화 반응이 현저히 감소하였다($p < 0.05$)(Fig. 1C).

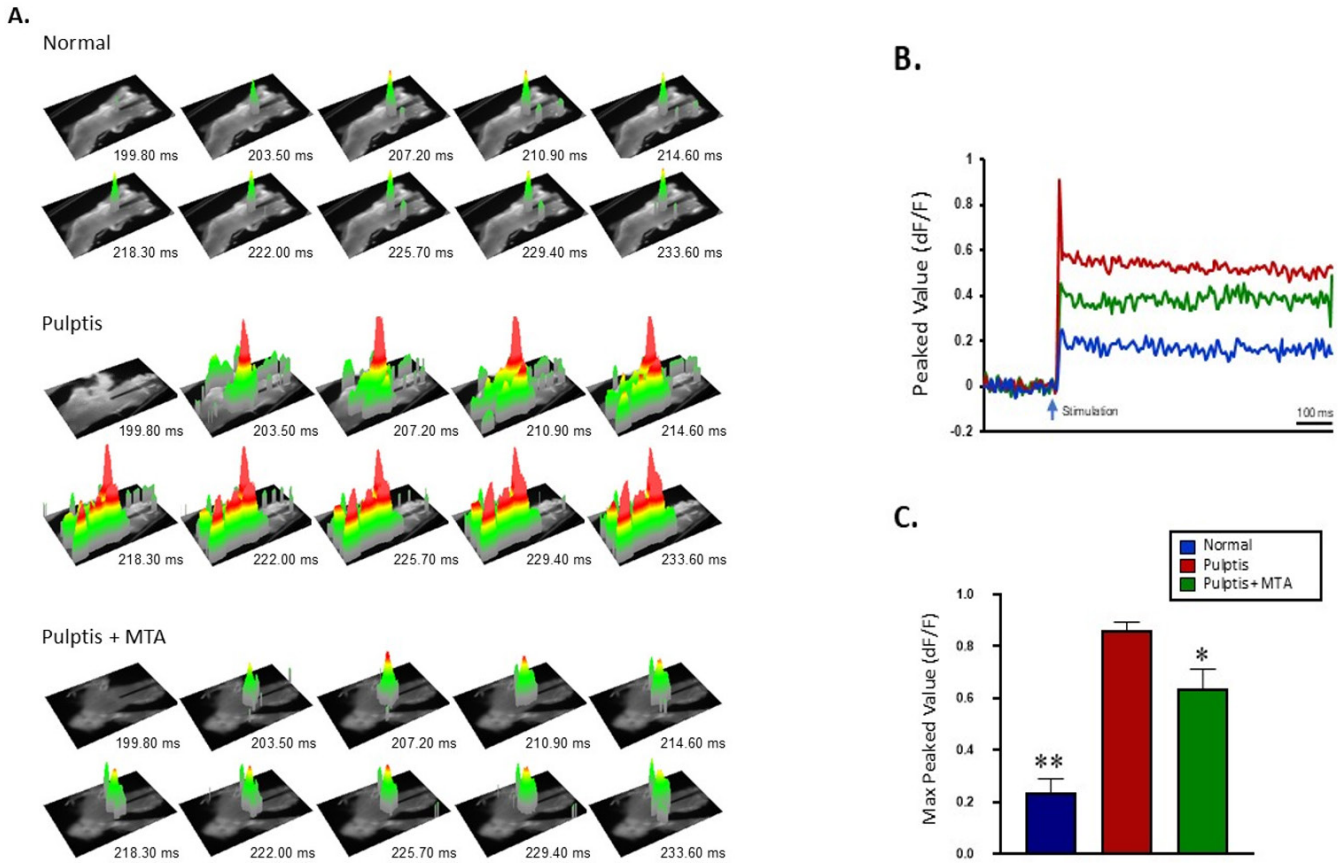


Fig. 1. Comparison of trigeminal ganglion (TG) responses with electric stimulation in each group. A. Comparison of VSD signals in the normal, pulpitis, and pulpitis + MTA treatment group. The typical time course of the optical signal from trigeminal neurons. Fluorescence changes indicated; upward deflections of the signal indicate depolarization after electrical stimulation. B. Increased neuronal activities in TG by electrical stimulation of pulpitis. C. The amplitudes of the optical signals were increased in the pulpitis compared with normal group. Data are presented as mean \pm SEM. $**p < 0.01$, $*p < 0.05$. $n = 5$ per group.

2. MTA 처리에 따른 시·공간적 활성화 영역의 변화

전기 자극에 대한 신경세포 활성화 패턴을 시·공간적 변화에 따른 광영상 이미지로 펼쳐서 확인하고 고활성화 부위와 중등도 활성화 부위의 영역을 확인한 결과 대조군의 경우 전기자극을 준 부위에서만 중등도의 신경세포 활성화가 일어나고 시간이 지나도 주변으로 확산되는 양상은 보이지 않았다. 반면, 치수염 그룹에서는 고활성화 부위가 강하고 넓게 주변으로 확산되어 시간이 지나도 지속적으로 신경세포를 흥분시키는 패턴이 관찰되었다. 이에 반해 MTA를 처리한 그룹에서는 자극 부위에서만 고활성화 부위가 발생되며 중등도의 신경세포 활성화가 주변으로 약하게 확산되어 지속되는 현상이 관찰되었다(Fig. 2A). 즉, 치수염에 MTA 처리시 신경세포의 활성화가 시·공간적으로 감소되는 것으로 보아 치수염에 의한 삼차신경세포 흥분억제에 의해 신경세포 활성화 유발이 감소될 것으로 생각된다.

삼차신경세포 활성화 영역을 동일하게 정한 다음 각 부위의 고활성화 부위(빨간색)와 중등도 활성화 부위(초록색)의 면적을 측정하고 활성화 정도를 픽셀로 분석한 결과(Fig. 2B), 초록색 픽셀의 중등도 활성화 영역 경우 대조군 (5.39 ± 1.39)과 비교 시 치수염 그룹(29.70 ± 3.46)에서 유의미하게 활성화 영역이 넓어지는 양상이 관찰되었다($p < 0.01$). 하지만, MTA 그룹에서는 신경세포 활성이 14.40 ± 7.70 으로 통계학적으로 유의미하게 대조군에 비해 증가하지 않았다. 고활성화 영역에서 치수염 그룹(14.93 ± 3.28)과 MTA 그룹(8.74 ± 10.24)의 빨간색 픽셀 비교시 유의미한 차이를 보였다($p < 0.01$). 또한, 초록색과 빨간색을 모두 합한 활성화 영역에서는 대조군은 12.21 ± 2.38 이었으나 치수염 그룹에서는 44.63 ± 4.10 으로 MTA 그룹은 23.14 ± 17.94 로 두 그룹 모두 유의미하게 증가된 양상이 관찰되었다($p < 0.01$).

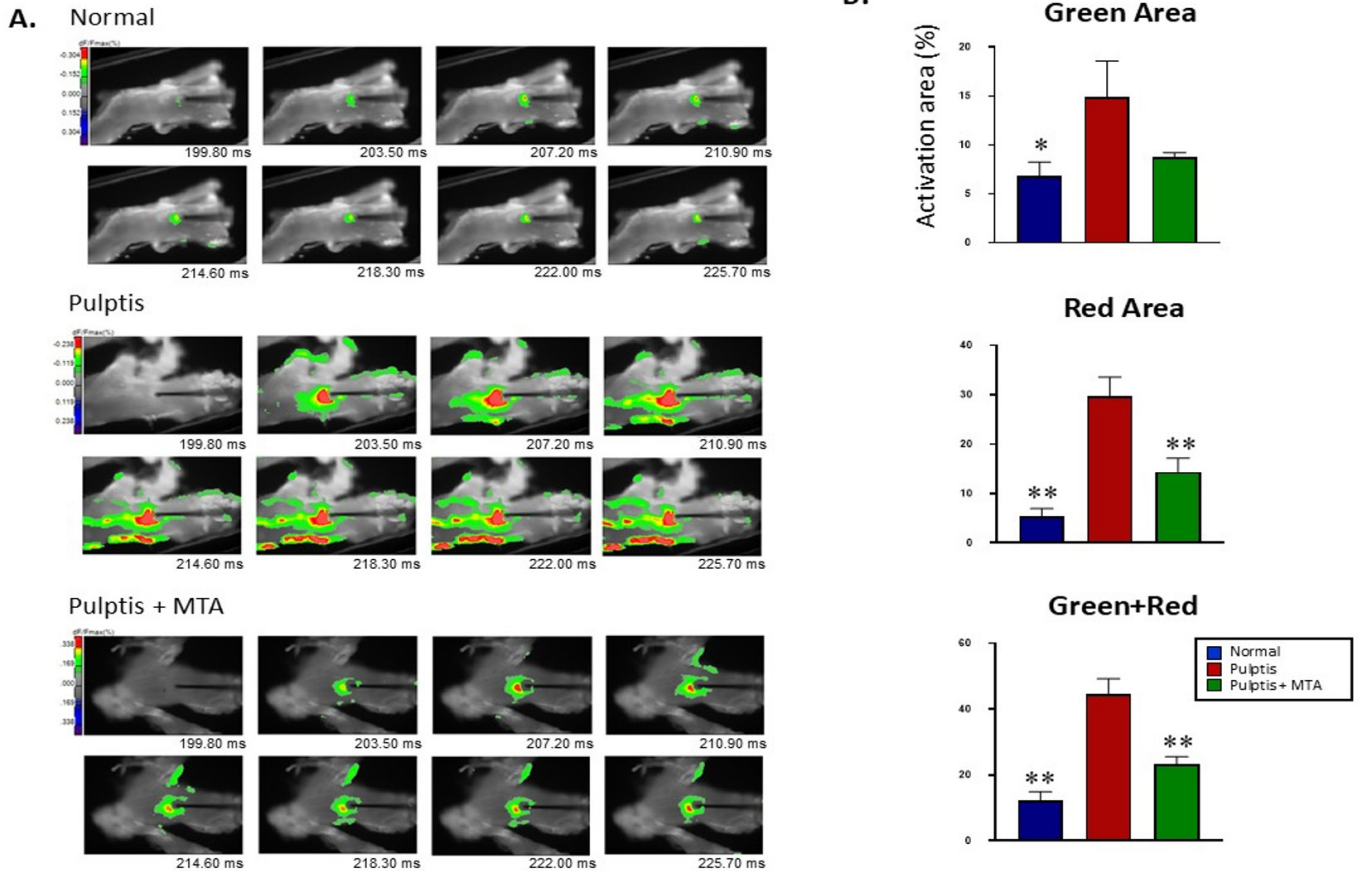


Fig. 2. Representative image of the activated areas shown in each group. A. Comparison of activated areas by typical time course of the optical signal with green/red. Reduced neuronal activities area in TG by application of the MTA treatment. B. The optical signal with green/red activated area was significantly decreased in the pulpitis + MTA group, whereas pulpitis group significantly increased the green/red activated area compared with the normal group. Data are presented as mean \pm SEM (B). ** $p < 0.01$, * $p < 0.05$. $n = 5$ per group.

3. 삼차신경절에서의 통증 신호전달 분자발현 변화

MTA 처리 시 치수부터 대뇌로 올라가는 삼차신경절에서 흥분성 신경세포 활성화 신호전달 기전을 전기영동법을 통해 각 실험그룹과 대조군 간에 특정 단백질 발현 정도를 비교 및 분석하였다(Fig. 3). 화학적 자극 및 염증성 환경에서 활성화는 흥분성 신경세포 신호를 증폭시키는 채널 작용하는 치수염에 관여하는 TRV 계열 중 하나인 TRPV1 발현 수준은 대조군(0.88 ± 0.07)에 비해서 치수염 그룹(1.58 ± 0.17)에서 유의하게 증가하는 양상을 보였다. 하지만, MTA를 처리한 그룹(1.12 ± 0.10)에서 TRPV1 단백질이 유의미하게 감소하였다($p < 0.05$)<Fig. 3A>. 초기 신경활성 및 감각 표지 인자로 알려진 pERK 단백질 발현 양상은 대조군(0.71 ± 0.16)에 비해서 치수염 그룹(1.58 ± 0.22)에서 유의미하게 증가하는 양상을 보였으나, MTA 처리한 그룹(0.98 ± 0.08)에서 세포내 신경세포의 활성화와 통증관련 감각의 신호 전달 단백질 발현이 45% 이상 감소되는 유의미한 차이를 보였다($p < 0.05$)<Fig. 3B>. 치수염 그룹에서는 대조군에 비해 삼차신경절에서 염증성 통증 인자인 TRPV1 및 통증 감각과 관련된 pERK의 발현 수준이 유의하게 증가한 반면, MTA 처리 그룹에서는 이러한 통증관련 단백질 발현량이 유의미하게 감소됨을 확인하였다.

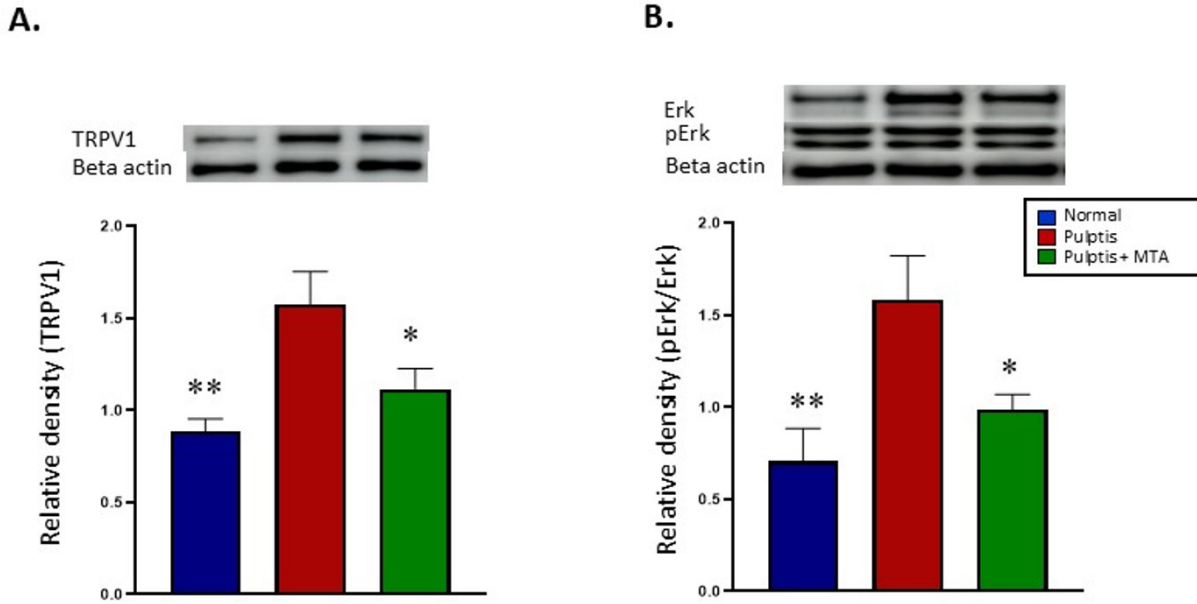


Fig. 3. Changes in signaling molecules in each group. A. Changes in TRPV1 between groups. Increased TRPV1 protein levels were statistically observed in the pulpitis group. B. Changes in pERK/ERK. Significantly increased pERK was observed in pulpitis compared to normal, and these changes were reduced after MTA treatment (n=5 per group). Data are presented as means ± SEM and asterisks indicate significant differences compared with the pulpitis group (***p*<0.01, **p*<0.05).

총괄 및 고안

본 연구는 AITC로 유발한 치수염 상태에서 삼차신경절의 통증 관련 집단 신경활동을 voltage-sensitive dye(VSD) 기반 광영상으로 시·공간적으로 정량화하고 MTA 처리가 치수염에 의해 증폭된 삼차신경절의 흥분성을 완화하는지 관찰한 결과, MTA 처리군에서는 치수염 군에 비해 VSD 시·공간 신호가 전반적으로 감소하였다. 또한, 동일 자극에 대한 삼차신경절 신경세포의 흥분성이 유의하게 감소했으며, 중등도 및 고활성화 영역의 면적 및 신호 분포가 완화되는 양상이 관찰되었다. 더 나아가 삼차신경절에서 염증성 통증 변환과 통증 감각에 관여하는 TRPV1 및 pERK 발현이 MTA 처리 후 유의미하게 대조군에 비해 감소되었다. 이는 치수염성 통증이 말초 치수에 국한된 현상이 아니라 삼차신경절 수준의 분자-세포 기전 변화로 증폭된다는 기존 통찰과 일치하며[17], MTA가 근관치료뿐만 아니라 치수염에 의해 유발된 통증을 감소시키는 작용을 할 수 있을 것으로 생각된다.

치수염은 다양한 염증 매개물과 신경 면역 상호작용을 통해 일차 구심성 신경의 반응성을 증가시켜 삼차신경절에서 과흥분성으로 나타난다. TRP 채널은 치통 유발(Transduction) 및 염증 환경에서의 통증 감각에 깊이 관여하는 것으로 알려져 있으며 TRPV1은 염증성 치수 통증과 연결된 대표적 통증 채널로 반복적으로 제시되어진다[1,2]. 또한 LPS 유발 치수염 모델에서 삼차신경절의 TRPV1 발현이 증가한다는 보고는 치수의 염증이 삼차신경절의 통증 관련 인자를 재편한다는 점을 뒷받침한다[9]. 본 연구의 전기생리학적 광영상 이미지 결과에서 치수염 그룹은 대조군에 대비 동일 자극에 대해 삼차신경절의 신경세포 반응이 유의하게 증가하여 치수염이 삼차신경절의 통증 감각을 증폭시키는 반면[18], MTA 처리 그룹에서는 흥분성 신경세포 반응이 유의미하게 감소되어 치수염으로 이미 유발된 신경계 과흥분성을 완전하게 정상화하지는 못하지만 적어도 동일 자극에 대한 삼차신경세포의 통증 감각 반응을 의미 있게 완화시키는 것으로 생각된다. 이는 삼차신경절에서 전압개폐성 Na⁺ 채널, 특히 Nav1.7이 염증성 치수통증 유도에 관여하고 ERK 신호와 연동될 수 있다는 보고들과 일치한다[8,19]. 즉, 치수염 상황에서 삼차신경세포의 흥분성 증폭은 TRP 뿐 아니라 Nav-ERK와 같이 다양한 분자 변화에 의해 유지될 수 있으며, 본 연구에서 관찰된 pERK 감소는 MTA가 이러한 통증 감각 유지 회로의 일부를 약화시키는 것으로 사료된다. 또한 본 연구의 픽셀 기반 분석에서 초록색 픽셀은 치수염 군에서 정상 대비 크게 확대되었고, MTA 처리군에서는 그 확장이 억제되는 양상이 관찰되었으며, 고탈성(빨간) 영역 또한 치수염 군과 MTA 군 사이에 유의한 차이가 관찰되었다. 이러한 결과는 MTA가 단지 가장 강한 신호의 피크만 낮추는 것이 아니라, 통증 신호에 관여하는 삼차신경 영역 자체를 줄이거나 확산을 제한함으로써 감각된 통증 회로가 넓게 활성화되는 양상을 완화할 수 있음을 나타낸다. 치수 손상 및 염증 상황에서 유

발통뿐 아니라 자발통과 지속통 유발 관련하여 지속적으로 논의되어져 왔으며[20], 이는 삼차신경절에서의 공간적 확산은 이러한 불쾌감, 넓게 퍼지는 통증 느낌, 과민반응 등의 임상적 통증 경험과 연관될 것으로 사료된다.

MTA 처리가 삼차신경절 통증 신호를 완화시키는 기전은 본 연구결과의 단일 경로로 단정하기는 어렵지만, 본 연구에서 확인된 광영상 지표의 신경세포활성 강도와 면적 감소 및 TRPV1과 pERK 단백질 발현량 감소의 일치 방향성은 MTA가 적어도 치수염 통증의 대표적인 통증 감각인 TRP 채널 기반 변화와 ERK 인산화 기반 신호증가를 억제함은 이전 연구들과 일치함을 보였다[2,8,9,19]. 특히, ERK 신호는 염증성 통증에서 신경세포의 장기적 흥분성 증가와 연관되며 NaV 채널과의 기능적 연결이 제시된 바 있다[8]. 즉, MTA 처리 후 pERK 감소는 삼차신경절 수준에서의 감각 유지 회로를 약화시킴으로 동일 자극에 대한 과도한 반응을 낮추는 데 관여하였을 것으로 생각된다. 동시에 TRPV1 감소는 치수염 환경에서 열과 화학적 자극 변환 및 염증 매개물에 대한 민감도가 낮아지는 효과로 연결될 수 있으며, 이는 광영상 이미지에서 신경세포 활성화 면적과 강도 감소와 일치한다[9].

본 연구의 제한점은 동물모델 기반의 단일 시점(MTA 적용 후 3일) 분석으로 구성되어 있어 임상적 효과로 일반화하기에는 제한이 있으며, 시간-의존적 변화를 직접 규명하지 못한 점과 말초 치수 조직에서의 염증 정도와 삼차신경절 변화 사이의 직접적 매개를 분리해 보여주지 못한 점이 있다. 따라서, 이후 연구에서는 시간에 따른 통증 감각의 변화, 행동학적 통증 지표, 그리고 약리학적 개입을 통해 인과성을 강화할 필요가 있다. 그럼에도 불구하고 본 연구는 MTA가 치수염으로 유발된 삼차신경절의 신경세포 과흥분성 및 통증 관련 신호전달을 완화한다는 근거를 제공하며, 치수염에 의한 통증 감각이 삼차신경절 수준에서 증폭되는 신경생물학적 경로를 임상적 재료 기반 중재가 조절할 수 있음을 제시하였다. 또한, 본 연구 결과는 치위생 임상 현장에서 치수염 환자의 통증 관리 및 치료 협조도 향상을 위한 교육적 근거를 제공한다는 점에서 치위생학적 의의가 있으며, MTA의 삼차신경절 감각 완화 기전은 환자에게 처치의 효과성을 과학적으로 설명하는 근거 자료로 활용될 수 있을 것으로 사료된다.

결론

본 연구는 MTA 처리에 따른 치수염에 의해 유발되는 삼차신경 통증 양상을 관찰함으로써 칼슘실리케이이트계의 통증의 통각 신호처리 조절 및 치수염 반응 신호전달 물질의 변화를 확인하였다. 이는 임상적 진료 시 사용되는 MTA가 근관치료(Endodontic treatment)에서의 밀폐(Sealing) 및 특정 상황에서의 수리(Repair)에 활용될 뿐만 아니라 치수염 통증경감 관련 응용 가능성을 위한 기초자료를 제공하고자 하였으며, 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 광영상 이미지 결과 MTA 처리그룹에서는 시-공간 이미지에서 신경활성화 정도가 치수염 그룹에 비해 다소 줄어들고, 중등도와 고효율성도 부위의 신호도 공간적으로 약해져 유발된 통증이 감소됨을 확인하였다.

2. 자극에 대한 각 그룹의 신경세포 반응 비교시, 삼차신경절의 신경세포 흥분성에 있어서 치수염이 유발된 경우 동일 자극에 대해서 더 큰 신경세포 반응이 관찰되었다($p < 0.01$). 하지만, MTA를 치수염 유발 후 처리한 그룹에서 삼차신경절의 신경세포 활성화 반응이 현저히 감소하였다($p < 0.05$).

3. 각 부위의 고효율성 부위(빨간색)와 중등도 활성화 부위(초록색)의 면적을 측정하고 활성화 정도를 픽셀로 분석한 결과<Fig. 2B>, 초록색 픽셀의 경우 대조군과 비교 시 치수염 그룹에서 활성화 부위가 넓어지는 양상이 관찰되었다($p < 0.01$). 반면, MTA 그룹에서는 신경세포 활성이 대조군에 비해 증가하지 않았다.

4. 고효율성 영역에서 치수염 그룹과 MTA 그룹간 유의미한 차이를 보였다($p < 0.01$). 또한, 초록색과 빨간색을 모두 합한 활성화 영역에서는 대조군에 비해 치수염 그룹과 MTA 그룹 모두 유의미하게 증가되었다($p < 0.01$).

5. 단백질 발현에 따른 신호전달 기전 연구에서 치수염 그룹은 대조군에 비해 삼차신경절에서 염증성 통증 인자인 TRPV1 및 통증 감각과 관련된 pERK의 발현 수준이 유의하게 증가한 반면, MTA 처리 그룹에서는 이러한 통증관련 단백질 발현량이 유의미하게 감소되었다($p < 0.05$).

이상의 결과로 치수염 유발에 따른 삼차신경절의 통증관련 신경세포 활성이 MTA 처리에 따른 세포 활성화와 이와 관련된 단백질 발현량이 감소되었다. 이러한 결과는 임상적 진료 시 사용되는 MTA가 근관치료 뿐만 아니라 치수 손상 및 이로 인한 삼차신경 통증을 줄여줄 수 있는 유용한 치료접근법을 제공할 수 있음을 시사한다.

Notes

Author Contributions

The author fully participated in the work performed and documented truthfully.

Conflicts of Interest

The author declared no conflicts of interest.

Funding

This study was supported by the Basic Science Research Program through the NRF-2016RID1A3B20-08194.

Ethical Statement

These experiments were approved by the Institutional Animal Care and Use Committee (IACUC approval No. A2024-0182) in the Laboratory Animal Facility at Yonsei University (Seoul, Republic of Korea).

Data Availability

Data can be obtained from the corresponding author.

Acknowledgements

None.

References

1. Chung MK, Raman S, Szallasi A. Tooth pulp afferents and transient receptor potential (TRP) ion channels as key regulators of pulp homeostasis, inflammation, and pain. *Int J Mol Sci* 2025;27(1):182. <https://doi.org/10.3390/ijms27010182>
2. Hossain MZ, Bakri MM, Yahya F, Ando H, Unno S, Kitagawa J. The role of transient receptor potential (TRP) channels in the transduction of dental pain. *Int J Mol Sci* 2019;20(3):526. <https://doi.org/10.3390/ijms20030526>
3. Lee K, Lee BM, Park CK, Kim YH, Chung G. Ion channels involved in tooth pain. *Int J Mol Sci* 2019;20(9):2266. <https://doi.org/10.3390/ijms20092266>
4. Gao L, Fan F, Wang L, Tang B, Wen Z, Tang J, et al. Polarization of macrophages in the trigeminal ganglion of rats with pulpitis. *J Oral Rehabil* 2022;49(2):228–36. <https://doi.org/10.1111/joor.13245>
5. Sunaga M, Tsuboi Y, Kaizu A, Shinoda M. Role of macrophages in trigeminal ganglia in ectopic orofacial pain associated with pulpitis. *J Oral Biosci* 2024;66(1):145–50. <https://doi.org/10.1016/j.job.2024.02.001>
6. BaHammam A. Involvement of transient receptor potential ankyrin 1 (TRPA1) in inflammatory dental pulp pain [Doctoral dissertation]. Boston (MA): Harvard University School of Dental Medicine, 2025. <https://dash.harvard.edu/handle/1/42719913>
7. Kunka Á, Lisztes E, Bohács J, Racskó M, Kelemen B, Kovalecz G, et al. TRPA1 up - regulation mediates oxidative stress in a pulpitis model in vitro. *Br J Pharmacol* 2024;181(17):3246–62. <https://doi.org/10.1111/bph.16386>
8. Sun S, Sun J, Jiang W, Wang W, Ni L. Nav1.7 via promotion of ERK in the trigeminal ganglion plays an important role in the induction of pulpitis inflammatory pain. *Biomed Res Int* 2019;2019:6973932. <https://doi.org/10.1155/2019/6973932>
9. Chung MK, Lee J, Duraes G, Ro JY. Lipopolysaccharide-induced pulpitis up-regulates TRPV1 in trigeminal ganglia. *J Dent Res* 2011;90(9):1103–7. <https://doi.org/10.1177/0022034511413284>

10. Beldar TL, Jawdekar AM, Mistry LN. Success of pulpotomy with MTA in primary teeth: a systematic review and meta-analysis. *Bioinformation* 2025;21(8):2574–80. <https://doi.org/10.6026/973206300212574>
11. Bansal K, Jain A, Aggarwal N, Jain A. Biodentine VS MTA: a comparative analysis. *Int J Oral Health Dent* 2020;6(3): 201–8. <https://doi.org/10.18231/j.ijohd.2020.042>
12. Natale LC, Rodrigues MC, Xavier TA, Simões A, de Souza DN, Braga RR. Ion release and mechanical properties of calcium silicate and calcium hydroxide materials used for pulp capping. *Int Endod J* 2015;48(1):89–94. <https://doi.org/10.1111/iej.12281>
13. Barbaz-Isfahani R, Khademi A, Iranmanesh P, Yeganeh MG, Gholizadeh S, Iranmanesh F, et al. Performance and prospects of bioactive endodontic cements: a comparative mechanobiological assessment of mineral trioxide aggregate and calcium-enriched mixture cement. *Prog Biomater* 2025;14(2):8. <https://doi.org/10.57647/pibm.2025.1402.38>
14. Asgary S, Eghbal MJ. The effect of pulpotomy using a calcium-enriched mixture cement versus one-visit root canal therapy on postoperative pain relief in irreversible pulpitis: a randomized clinical trial. *Odontology* 2010;98(2):126–33. <https://doi.org/10.1007/s10266-010-0127-2>
15. Madani ZS, Haddadi A, Mesgarani A, Seyedmajidi M, Mostafazadeh A, Bijani A, et al. Histopathologic responses of the dental pulp to calcium-enriched mixture (CEM) and mineral trioxide aggregate (MTA) in diabetic and non-diabetic rats. *Int J Mol Cell Med* 2014;3(4):263–71. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4293614/>
16. Usta SN, Keskin C, Pirimoğlu B, Aksoy A. Histological response of inflamed pulp to hydraulic calcium silicate cements in direct pulp capping: systematic review of pulpitis models. *Aust Endod J* 2024;50(3):729–41. <https://doi.org/10.1111/aej.12873>
17. Lee KH, Kim UJ, Cha M, Lee BH. Inhibiting Nav1.7 channels in pulpitis: an in vivo study on neuronal hyperexcitability. *Biochem Biophys Res Commun* 2024;717:150044. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2024.150044>
18. Lee KH. Pulpitis pain relief by modulating sodium channels in trigeminal ganglia. *J Korean Soc Dent Hyg* 2024;24(3):219–27. <https://doi.org/10.13065/jksdh.20240303>
19. Kwon M, Jung IY, Cha M, Lee BH. Inhibition of the Nav1.7 channel in the trigeminal ganglion relieves pulpitis inflammatory pain. *Front Pharmacol* 2021;12:759730. <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.759730>
20. Rossi HL, See LP, Foster W, Pitake S, Gibbs J, Schmidt B, et al. Evoked and spontaneous pain assessment during tooth pulp injury. *Sci Rep* 2020;10(1):2759. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-59742-5>