

## 상아질을 통한 HEMA의 확산에 인산농도가 미치는 영향

윤미란 · 이광원 · 박수정\*

전북대학교 치과대학 치과보존학교실, 구강생리학교실\* 및 구강생체과학연구소

### ABSTRACT

#### EFFECT OF PHOSPHORIC ACID CONCENTRATION ON THE DIFFUSION OF HEMA THROUGH DENTIN

Mi-Ran Yoon, Kwang-Won Lee, Soo-Joung Park\*

*Department of Conservative Dentistry, and Oral Physiology\*, Chonbuk National University & Institute of Oral Bioscience*

The purpose of this study was to investigate the effect of phosphoric acid concentration on the movement of 2-hydroxyethylmethacrylate(HEMA) from bonding resin - resin composite combination through dentin in vitro. Freshly extracted human third molar teeth were divided into four groups each of 10 teeth. A closed chamber with 1ml distilled water was attached to the CEJ of each tooth. An occlusal cavity of 4mm diameter & remaining dentin thickness of 1.0-1.5mm was prepared in each tooth. Dentin was treated with 10% phosphoric acid gel for 15 seconds, 32% phosphoric acid gel for 15 seconds, or with 35% phosphoric acid gel for 15 seconds. A control group not treated with acid gel was also prepared. The cavities were rinsed, dried and then treated with the HEMA-containing All-Bond 2 primer & bonding resin which was light-cured for 10 seconds. The cavities were then restored with Z100 composite resin(shade:A3.5:3M Dent. Prod. USA) & light cured for 30 seconds.

Water samples were retrieved from the chambers over a time course (4.32, 14.4, 43.2, 144 & 432 minutes ; 1, 3 & 10 days ) and analyzed by high performance liquid chromatography.

The results were as follows.

1. HEMA was detected in the pulp chambers of all teeth from 4.32 minutes after resin placement. The highest rate of release was in the first sample period(0-4.32 min) & rate of release declined exponentially thereafter.
2. No significant differences were found for mean release rate for HEMA over a time course among the four groups ( $p > 0.05$ ).
3. The diffusion rate was significantly ( $p < 0.05$ ) less for 10% phosphoric acid gel than 32% phosphoric acid gel at the second sample period(4.32-14.4 min).
4. No significant differences were found for cumulative HEMA diffusion among the four groups at 10 days( $p > 0.05$ ) and mean total(cumulative) release at 10 days for all groups was in the 9 - 16 nmol range.
5. The cumulative release was significantly ( $p < 0.05$ ) less for 10% phosphoric acid gel than 32% phosphoric acid gel at the third(14.4-43.2 min) & fourth(43.2-144 min) sample period.

## I. 서 론

최근 경제적인 발전과 생활수준의 향상으로 인해 심미수복에 대한 환자들의 인식과 요구가 날로 증가되고 있다. 심미수복을 위한 충전재료로는 글라스아이오노머시멘트, 도재, 복합레진 등이 있는데, 이중 복합레진은 심미수복재료로 가장 널리 사용되고 있으며<sup>1)</sup> 개발초기에는 주로 전치부 수복에 사용되었으나 개선된 물리적 성질과 환자들의 심미적인 욕구가 증가함에 따라 전치부 뿐 만 아니라 구치부에서도 광범위하게 사용되고 있다. 그러나 시술과정중 수분에 매우 민감하고 중합의 불균일성으로 인한 잔류모노머의 독성<sup>2,3)</sup>, 중합수축으로 인한 변연누출등<sup>4)</sup>이 지적되어 이를 개선하고자 많은 연구가 진행되고 있다. 복합레진의 대표적인 단점 중 하나는 중합수축이라 할 수 있으며<sup>5,6)</sup> 이는 치질과 수복재간에 미세한 간극을 형성하여 미세누출을 일으키게 된다<sup>7,8,9)</sup>. 이로 인해 발생하는 임상적인 문제점은 슬루 과민증, 변연부의 변색, 이차 우식증<sup>10)</sup> 등을 들 수 있다. 따라서 수복재와 치질간의 강한 접착을 얻기위해 많은 연구가 진행되어왔다.

최근에는 Gwinnett<sup>19)</sup>, Wakabayashi 등<sup>20)</sup>이 탈회된 상아질 표면의 교원섬유층을 제거하여도 결합강도의 차이가 없거나, 오히려 증가되었다고 발표함으로써 혼합층(hybrid layer)에 의한 결합기전에 의문을 제기하였지만 현재까지는 레진과 교원섬유간의 미세기계결합이 상아질 결합의 주요 기전으로 인정받고 있다. 혼합층(hybrid layer)을 형성하기 위해서는 친수성 기질을 지닌 상아질에 레진을 침투시켜야 하지만 재래의 소수성 레진으로는 한계가 있어 HEMA<sup>21)</sup>, NPG-GMA<sup>22)</sup>, 4-MET(A)<sup>23)</sup>, glycerylmethacrylate<sup>24)</sup>같은 친수성 단량체들이 개발되었다. 산에 의해 처리된 상아질 표면에 휘발성 용매나 HEMA와 같은 친수성 레진으로 구성된 접착강화제를 도포함으로써 표면 젖음성의 증가와 상아질내로의 접착제의 침투가 촉진된다. 그러나 이러한 단량체들이 복합레진의 중합의 불균일성으로 미반응되고 남게되어 상아질을 통해 확산되어<sup>25,26,27)</sup> 치수에 대한 독성반응을 유발하게됨이 지적되었다.

Hanks 등<sup>28)</sup>은 상아질 삭편이 개재된 'in vitro pulp chamber' device를 사용해 광중합형 복합레진의 Balb/c 3T3 test cell에 대한 세포독성을 실험한 결과 중합후 24시간동안에 상아질 삭편(0.5mm 두께)을 통해 확산되어 세포의 단백질 합성억제를 나타냄을 보고하였으며, Anderson 등<sup>29)</sup>도 미중합된 레진의 성분들이 수복물로부터 organic medium을 통해 확산되어 심한 세포독성을 나타낼수 있음을 지적하였고 여러 역충전재료의 세포독성을 비교시 HEMA(35%)가 중등도의 세포독성을 나타냈으며<sup>29)</sup> 임 등<sup>30)</sup>은 수종의 상아질 primer를 배양한 L929 세포에 첨가하여 L929 세포의 생존능에 미치는 영향을 평가시 실험에 사

용된 모든 primer가 세포의 활성을 유의하게 억제하였으며 이중 HEMA가 많이 첨가된 Scotchbond 가 가장 세포의 활성을 억제함을 보고하였다.

상아질의 산부식은 상아질의 도말층을 제거하고 상아세관을 개방시켜 레진의 상아세관내로의 침투를 용이하게 하고 레진과 상아질간의 결합에 관여하는 혼합층을 형성하도록 해 레진과 상아질간의 결합력을 증가시키는데 중요한 역할을 하지만<sup>31)</sup> 상아질에 대한 산처리가 상아질의 투과성을 증가시켜 복합레진 구성성분에 대한 독성 위험을 증가시킬 수 있음이 지적되었다. Pashley 등<sup>32)</sup>은 hydraulic conductance에 의해 상아질의 투과성 측정시 상아질을 산처리했을 경우 fluid filtration rate가 5배나 증가된다고 하였고, Hume<sup>33)</sup>은 복합레진으로부터의 화학물들이 산처리된 균이산으로 처리되지 않은 군보다 상아질을 통해 확산되어 세포 독성을 나타내는 정도가 크다고 보고하였으며, Fujitani 등<sup>34)</sup>은 조직학적으로 세균오염이 없는 상태에서 범랑질과 상아질을 모두 산처리한 후에 bonding resin - composite resin combination으로 수복한 군에서 범랑질만을 산처리한 군보다 치수의 염증반응이 더 크게 유발되었음을 보고하였다.

이상의 연구 결과 등으로 상아질을 산용액으로 처리했을 경우 도말층이 제거되고 상아세관이 개방되어 상아질 투과성이 증대되고 이로 말미암아 레진 수복물로부터의 미반응된 단량체들이 상아질을 통한 치수로의 확산이 증가되어 이에 대한 독성 위험이 증가되게 된다고 본다. 산농도에 따라 어떤 성분의 상아질에 대한 확산 정도가 다르게 나타날 것이라 생각되며 또한 도말층에 대한 효과가 다르기에 레진과 상아질사이의 물리적 상호작용도 다르게 나타날 것이라 생각된다. 보다 높은 농도의 산용액으로 상아질을 처리시 상아질의 투과성이 증대되고 그에 따른 chemical의 확산이 증가되어 독성반응도 보다 증가될 것이라 사료된다.

이에 본 실험에서는 현재 임상에서 많이 쓰여지고 있는 세 가지 농도의 인산겔(10, 32, 35%)을 이용하여 상아질을 산처리한 다음 HEMA가 함유된 All-Bond 2 상아질 결합 시스템(Bisco, Inc. USA)과 Z100 복합레진을 충전한 후 상아질을 통한 HEMA의 확산정도를 비교함으로써 인산농도가 HEMA diffusion에 미치는 영향을 알아보고자 하였다.

## II. 실험재료 및 방법

### 1. 시편제작

우식증이 없고 발거한지 일주일 이상 경과되지 않은 40개의 제 3대구치를 선택하여 유기잔사와 치석을 제거하여 실험에 사용하였다. 각 군당 10개씩 4군으로 분류한후 각 치아

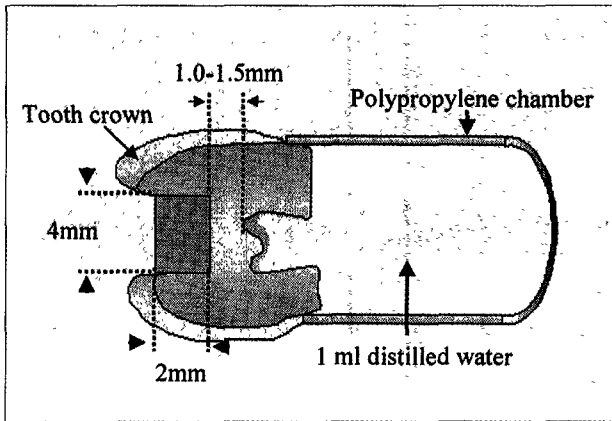


Fig. 1. Diagrammatic representation of the model system used.

의 CEJ(cemento-enamel junction) 하방 2mm 정도에서 수평으로 치근부위를 잘라낸후 치관부위만을 실험에 사용하였다. 치관부위에 주수하에서 고속용 핸드피스 tungsten carbide bur(# FG-557)를 이용하여 직경 4mm의 원형의 1급와동을 형성. 이때 와동 형성동안 여러 군데에서 반복하여 Boley gauge로 측정하여 치수강의 roof로부터 와동의 치수벽사이까지 남아있는 상아질의 두께(RDT)가 1.0-1.5mm가 되도록 하였다. 와동형성후 각 치아에 polypropylene chamber를 부착하고 polypropylene chamber내에 1ml의 증류수(HPLC용 grade Fisher scientific Co. USA)를 채워준 후 sticky wax로 CEJ부분을 잘 봉쇄시켜준다(Fig. 1).

1군은 10% 인산겔(Bisco, Inc USA)을 15초간 처리, 2군은 32% 인산겔(Bisco, Inc USA)로 15초간, 3군은 35% 인산겔(3M, USA)로 15초간 처리, 마지막으로 제 4군은 대조군으로 산부식 하지않은 채로 준비한다(Table 1). 각 와동을 세척과 건조한 후에 약간의 습윤의 상태에서 All Bond 2(Bisco, Inc. USA) primer와 All Bond 2 접착성 레진을 도포한후 Curing Light XL 3000(3M, Germany)으로 20초간 조사하여 광중합시킨다. 이어 각 와동에 2mm 깊이로 Z-100 레진(shade:A3.5:3M Dent. Prod. USA)을 충전한 다음 Curing Light XL 3000(3M, Germany)으로 40초간 광중합시킨 후 37°C 항온기에 보관하여 둔다.

복합레진 중합후에 샘플들의 chamber안의 증류수를 각 시간별(4.32, 14.4, 43.2, 144, 432분 ; 1, 3, 10일)로 새로운 증류수로 교체시켜준다.

## 2. 정량분석

이상으로 각 chamber내에 얻어진 추출물은 reversed-

Table 1. The treatment groups used in the experiment.

|         |   |
|---------|---|
| Group 1 | 10% H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> gel ; 15 seconds |
| Group 2 | 32% H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> gel ; 15 seconds |
| Group 3 | 35% H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> gel ; 15 seconds |
| Group 4 | no acid treatment (control group)                   |

Table 2. HPLC conditions

|              |   |
|--------------|---|
| Column       | : resolve 250 × 4.6 mm, silica C18 10 $\mu$   |
| Mobile phase | : Isocratic 30% methanol /70% distilled water |
| Flow rate    | : 0.5ml/min                                   |
| Detector     | : UV 215 nm                                   |

phased high performance liquid chromatography (HPLC) using a 305 gradient pump system, cartridge pre-column, stainless steel silica C18 resolve column, a gilson 118 UV/visible absorbance detector and Chromatocorder 21 integrator를 통해 분석하였다. 시편에서 0.1ml의 시료를 추출하여 HPLC에 주입하여 추출된 HEMA를 정량분석하였는데, 이 때 한 시료당 30분 동안 검출하였으며 분석을 위한 HPLC의 사용조건은 Table 2와 같다.

표준물질 HEMA를 증류수(MilliQ RO6 Plus : Millipore Corp., Waters chromatography Division, Table Milford, USA.)에 섞어 2.5%, 0.25%, 0.025%, 0.0025%의 표준시료를 조제하여 HPLC에 주입하여 측정 한 후 검량선(Calibration curve)을 구하였다. 추출물에서의 HEMA는 이 표준물질의 chromatogram의 유보시간(retention time)과 비교하여 알아내었으며 각 HEMA 유리속도는 추출된 HEMA양을 collection time으로 나누어서 구하고, HEMA의 누적 총량은 각 시간별로의 추출된 양을 더함으로서 구할 수 있었다. 이상에서 얻어진 결과를 Scheff F-test를 이용, 통계처리하여 HEMA의 평균 유리속도와 누적된 총량에 있어서 네 군간의 차이를 평가하였다.

## III. 실험결과

표준물질 HEMA를 증류수로 희석하여 얻은 표준시료를 각 농도당 5 $\mu$ l씩 HPLC에 주입한 결과 peak area가 23.450분 부근에서 유보시간(retention time)이 나타났다(Fig. 2). 표준시료의 각 농도당 얻어진 count area는 Table 3과 같다. 이상의 결과를 이용하여 표준시료의 검량선(calibration curve)을 얻었고 실험결과를 표준시료의 검

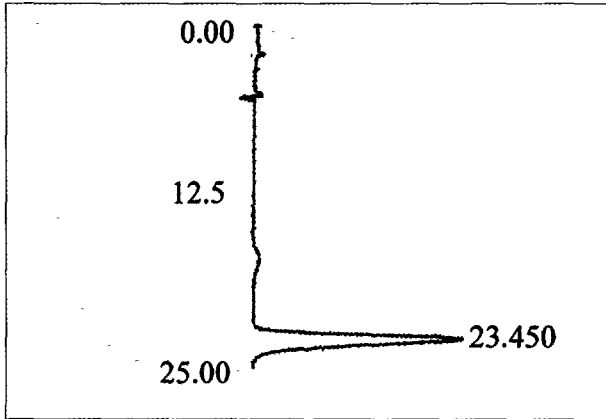


Table 3. Count area according to each concentration of the standard HEMA solution by HPLC

| concentration (%) | count area    |
|-------------------|---------------|
| 2.5               | 1,095,300,000 |
| 0.25              | 190,189,000   |
| 0.025             | 21,026,700    |
| 0.0025            | 1,552,900     |

Fig. 2. High-performance liquid chromatograms of the standard solution(0.0025% HEMA).

Table 4. HEMA amount over a time course in group 1. (unit : nmol)

|    | 4.32분  | 14.4분 | 43.2분 | 144분  | 432분  | 1일    | 3일     | 10일     |
|----|--------|-------|-------|-------|-------|-------|--------|---------|
| 1  | 2.959  | 1.946 | 3.981 | 3.721 | 1.349 | 0.891 | 0.052  | 0.0005  |
| 2  | 3.134  | 0.546 | 0.426 | 0.787 | 0.407 | 0.331 | 0.022  | 0.009   |
| 3  | 2.514  | 0.323 | 0.239 | 1.725 | 0.408 | 0.854 | 0.032  | 0.00002 |
| 4  | 0.671  | 0.276 | 0.144 | 0.131 | 0.464 | 0.352 | 0.071  | 0.0031  |
| 5  | 2.134  | 0.426 | 0.757 | 0.197 | 1.956 | 1.551 | 0.059  | 0.014   |
| 6  | 2.141  | 0.709 | 0.191 | 0.659 | 0.501 | 0.59  | 0.0009 | 0.089   |
| 7  | 6.309  | 3.467 | 1     | 0.891 | 1.6   | 2.095 | 1.283  | 0.77    |
| 8  | 0.049  | 0.329 | 0.826 | 0.671 | 0.348 | 0.187 | 0.107  | 0.0009  |
| 9  | 0.364  | 0.678 | 3.246 | 4.467 | 2.344 | 0.525 | 0.014  | 0.0025  |
| 10 | 11.786 | 5.513 | 3.394 | 1.417 | 0.554 | 0.252 | 0.043  | 0.039   |

Table 5. HEMA amount over a time course in group 2. (unit : nmol)

|    | 4.32분  | 14.4분  | 43.2분 | 144분  | 432분  | 1일    | 3일     | 10일     |
|----|--------|--------|-------|-------|-------|-------|--------|---------|
| 1  | 7.887  | 6.265  | 2.328 | 0.851 | 0.486 | 0.227 | 1.569  | 0.00007 |
| 2  | 2.762  | 1.347  | 2.014 | 0.418 | 0.397 | 0.469 | 0.161  | 0.044   |
| 3  | 3.162  | 10.232 | 8.912 | 8.709 | 3.981 | 1.259 | 0.177  | 0.106   |
| 4  | 0.389  | 10.471 | 5.37  | 2.511 | 1.348 | 1.003 | 0.022  | 0.0002  |
| 5  | 7.968  | 5.513  | 2.57  | 0.894 | 0.851 | 0.591 | 0.354  | 0.213   |
| 6  | 3.305  | 2.578  | 3.623 | 3.172 | 1.513 | 0.501 | 0.0003 | 0.00001 |
| 7  | 3.322  | 2.763  | 2.827 | 3.9   | 0.502 | 0.251 | 0.115  | 0.066   |
| 8  | 7.787  | 2.951  | 1.622 | 2.712 | 2.398 | 1.05  | 0.089  | 0.114   |
| 9  | 13.804 | 11.256 | 7.099 | 1.554 | 2.566 | 1.348 | 0.067  | 0.09    |
| 10 | 6.176  | 2.956  | 1.741 | 0.761 | 0.364 | 0.276 | 0.035  | 0.0004  |

량선에 대입하여 각각의 시료 0.1ml에 함유된 HEMA의 양을 구하였으며 그 양을 1ml내 함유된 HEMA의 양으로 환산하여 Table 4, 5, 6, 7 과 같은 결과를 얻었다.

HEMA는 복합레진 충전후 4.32분후에 모든 치아의 치수강에서 검출되었다. 각 군당 시간별 HEMA의 평균 유리속

도(mean release rate)는 Fig. 3에서 보여지며 가장 높은 평균 유리속도는 0 - 4.32분 구간의 제 2군(0.5991±2893nmol/min) 이며 모든 군에서 시간에 따라 점차 감소하는 경향을 보였다. 각 군별 전체적인 평균 유리속도는 2군(0.1362±0.2692nmol/min) > 4군 (0.1007±

Table 6. HEMA amount over a time course in group 3. (unit : nmol)

|    | 4.32분 | 14.4분 | 43.2분 | 144분  | 432분  | 1일    | 3일      | 10일   |
|----|-------|-------|-------|-------|-------|-------|---------|-------|
| 1  | 9.549 | 4.668 | 5.513 | 3.322 | 0.637 | 0.051 | 0.0028  | 0.071 |
| 2  | 0.467 | 0.209 | 9.102 | 9.58  | 2.763 | 0.093 | 0.477   | 0.244 |
| 3  | 0.251 | 0.253 | 0.587 | 0.052 | 0.427 | 0.676 | 0.151   | 0.08  |
| 4  | 5.118 | 5.763 | 2.883 | 1.774 | 0.087 | 0.758 | 0.00005 | 0.308 |
| 5  | 0.893 | 2.763 | 2.7   | 2.096 | 0.709 | 0.093 | 0.0005  | 0.147 |
| 6  | 1.825 | 1.889 | 1.256 | 0.2   | 0.506 | 0.256 | 0.102   | 0.081 |
| 7  | 1.816 | 0.425 | 2.749 | 1.589 | 0.103 | 0.317 | 0.0005  | 0.099 |
| 8  | 0.475 | 0.026 | 3.883 | 3.883 | 0.229 | 0.204 | 0.095   | 0.034 |
| 9  | 2.037 | 0.261 | 1.573 | 1.277 | 0.873 | 0.479 | 0.762   | 0.435 |
| 10 | 8.709 | 6.918 | 5.136 | 4.182 | 0.345 | 0.246 | 0.01    | 0.169 |

Table 7. HEMA amount over a time course in group 4. (unit : nmol)

|    | 4.32분 | 14.4분 | 43.2분 | 144분  | 432분  | 1일      | 3일      | 10일     |
|----|-------|-------|-------|-------|-------|---------|---------|---------|
| 1  | 1.626 | 1.734 | 1.946 | 0.834 | 0.526 | 0.1     | 0.00004 | 0.013   |
| 2  | 2.578 | 6.625 | 1.483 | 0.626 | 0.91  | 0.214   | 0.0008  | 0.012   |
| 3  | 1.05  | 0.761 | 0.229 | 0.853 | 0.448 | 0.162   | 0.0004  | 0.0001  |
| 4  | 0.249 | 0.761 | 0.587 | 0.231 | 0.389 | 0.00006 | 0.00005 | 0.0026  |
| 5  | 0.601 | 0.347 | 0.155 | 1.069 | 0.577 | 0.174   | 0.189   | 0.069   |
| 6  | 3.387 | 0.297 | 0.368 | 0.028 | 0.91  | 0.072   | 0.028   | 0.0031  |
| 7  | 2.749 | 1.146 | 0.219 | 0.372 | 0.241 | 0.913   | 0.009   | 0.00001 |
| 8  | 4.786 | 6.309 | 7.762 | 6.309 | 3.801 | 0.977   | 0.07    | 0.00003 |
| 9  | 6.175 | 4.458 | 1.05  | 1.816 | 0.797 | 0.678   | 0.067   | 0.00003 |
| 10 | 3.02  | 4.37  | 0.372 | 0.59  | 0.389 | 0.098   | 0.019   | 0.186   |

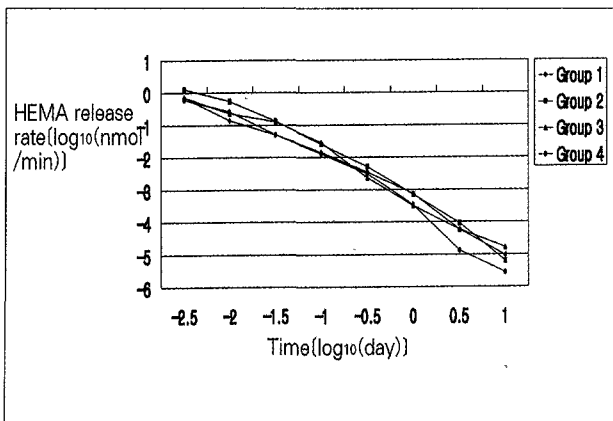


Fig. 3. HEMA release rate through dentin.

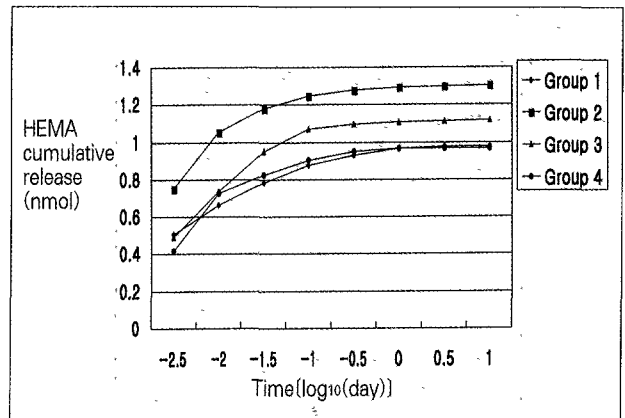


Fig. 4. HEMA cumulative release through dentin.

0.2226nmol/min) > 3군 (0.0874±0.1912nmol/min) > 1군 (0.0683±0.1618nmol/min) 순이나 통계적인 유의성은 없다(p>0.05). 시간별 유리속도 비교시 4.32-14.4분 구간에서 2군이 1군에 비해 유의성 있게 높았으나(p<0.05), 그 외의 다른 구간에서는 통계적으로 유의성 있는 차이가

없었다.

HEMA의 누적된 양(cumulative release)은 Fig. 4에서 보이며 1일 이후부터는 미세한 양만이 검출되었다. 10일째의 각 군별 평균적인 누적된 양은 2군 (15.8455±4.5658nmol) > 3군 (13.0773±8.4479nmol) > 1군

( $9.5315 \pm 6.9550 \text{ nmol}$ ) > 4군 ( $9.2973 \pm 8.3704 \text{ nmol}$ ) 순이나 통계적인 유의성은 없다 ( $p > 0.05$ ). 시간별 누적된 양의 비교시는 14.4 - 43.2분 구간과 43.2 - 144분 구간에서 2군이 1군에 비해 유의성있게 높았으나( $p < 0.05$ ), 그 외의 다른 구간에서는 유의성 있는 차이가 없었다.

#### IV. 총괄 및 고안

상아질 결합제는 상아질에 복합레진을 결합시키기 위하여 개발되었다. 상아질 결합제는 복합레진 수복물의 변연누출을 감소시키고 보존적인 와동형성에서 유지를 제공하며 교합응력을 분산시킨다. 상아질 접착제는 연대에 따른 세대로 분류되며 현재 치과 진료실에서 주로 사용되고 있는 접착제는 3세대와 4세대 접착제이다. 이런 최근 사용되고 있는 상아질 결합제는 상아질에 대한 복합레진의 결합을 현저히 증가시킨 것은 주지의 사실이나 상아세관입구를 개방시켜 투과성을 증가시키므로 치수로 확산하는 세균의 산물이나 수복재료부터 용출되는 독성물질이 치수로 침투할 수 있는 가능성이 증가되고 있다.

상아질 결합제 사용으로 복합레진 수복물로부터의 치수 자극효과는 여러 가지 이유로 증대되게 되는데, 즉, 상아질 결합제는 상아질에 이장재없이 직접 도포하여 사용하기 때문에 치수에 유해한 효과를 나타낼 수 있다. Rathbun 등<sup>35)</sup>과 Hanks 등<sup>36)</sup>은 현재 사용되고 있는 상아질 결합제의 주요 성분인 Bis-GMA가 에탄올과 같은 용매에 의해 중합된 레진으로부터 쉽게 용출될 수 있음을 보고하였다.

또한 산소 억제층이 상아질 결합제 단량체의 완전중합을 방해할 뿐 아니라<sup>37)</sup> 상아질의 산부식은 일반적으로 습윤의 상태에서 수행되어지는데 이런 습윤의 상태가 상아질 결합제의 완전중합을 방해하여 불완전하게 중합된 레진단량체들이 보다 잘 용해되어 치수로 확산되게 된다. 상아질이 여러가지 물질에 대하여 투과성을 갖는 것 또한 상아질 결합제의 유해성의 원인이 될 수 있다<sup>38)</sup>.

Gerzina & Hume<sup>27)</sup>은 복합레진 수복물로부터 TEGDMA가 유리되어 상아질을 통해 치수강으로 확산될 수 있음을 보고하였으며, 이러한 확산시 치수내압(positive pulpal pressure)은 레진 단량체(TEGDMA & HEMA)의 치수로의 확산을 감소시키는 역할을 하는 반면<sup>26)</sup> 상아질 결합제는 오히려 레진 단량체 확산 증가에 기여한다고 하였다<sup>39)</sup>. Hamid 등<sup>40)</sup>은 상아질을 통한 HEMA의 확산에 인산의 농도와 처리시간이 미치는 영향을 연구한 결과 일반적으로 인산처리한 군이 인산처리하지 않은 군에 비해 HEMA의 투과성이 증대되며 또한 일반적으로 장시간, 고농도의 산처리시 HEMA의 확산이 증대됨을 보고하였다.

Pashley<sup>41)</sup>는 치수의 세포독성변화는 주로 상아질의 투과성에 달려있기에 세포독성 검사시 상아질 투과성을 고려해

야한다고 주장하였는데, H rsted-Bindslev<sup>42)</sup>는 상아질 결합제 GLUMA의 사용시 상아질 두께가 0.1mm이하일때 치수에 독성반응을 유발한다고 하였고, Meryon & Brook<sup>43)</sup>은 0.1mm & 0.5mm두께의 상아질 삭편을 매개로 3가지 다른 상아질 결합제(SB2, GLUMA, Tripton)의 세포독성 검사시 3가지 모두 세포독성이 있었으며, Hanks 등<sup>44)</sup>은 직접적인 접촉에 의한 세포독성 검사와 상아질을 매개로한 세포독성 검사 비교했을 경우 monolayer culture에 대해선 HEMA보다 Glutaraldehyde(GLUT)가 더 독성이 강하게 나타났으나 GLUMA & Scotchbond 2에선 비슷한 세포독성을 보였으며, 상아질을 통해 확산되는 GLUT는 15배, HEMA는 27배정도 농도가 희석되는 효과가 있음을 보고하였다.

본 실험에서는 10%, 32%, 35% 인산겔과 최근에 널리 임상적으로 사용하고 있는 3세대 상아질 결합제인 All-Bond 2 접착시스템과 Z-100 복합레진을 충전후 상아질(1 - 1.5mm 두께)을 통한 HEMA의 확산된 양을 HPLC를 통해 검출하였다. 복합레진내 잔류단량체의 분석을 위해 과거 NMR Spectroscopy를 비롯하여 C=C 이중결합이 C-C 단일결합으로 전환되는 정도를 측정하는 FTIR, MIR Spectrometer 등의 방법과 성분분석을 위해서는 Gas-liquid chromatography, UV/Vis Spectrophotometer와 High Performance Liquid Chromatography(HPLC)등이 이용되고 있는데, 이중 HPLC는 레진성분 분석에 적당한 방법으로 그동안 복합레진 구성성분의 정량,정성분석과 잔류단량체내 중합정도의 측정을 위해 사용되어져 왔으며, 장점은 물질간의 유보시간(retention time)이 서로 달라서 여러 물질 가운데 원하고자 하는 단일성분의 검출을 정확히 할 수 있고 한번에 여러 물질의 정량분석이 가능하며 Gas-chromatography는 휘발성상태로 만들어야만 분석이 가능하나 HPLC는 그럴 필요가 없고 미세한 양까지도 측정이 가능하기에 본 연구에 HEMA의 미세한 양을 정량분석하는데 가장 적합하리라 여겨 HPLC를 사용하였다.

All-Bond 2 접착시스템은 산부식제로 10% 인산을 상아질 및 법랑질 공용의 산처리 목적으로 사용하며, 접착강화제로는 2% NTG-GMA(the adduct of N-(p-tolyl)glycine and glycidyl methacrylate)를 기저로 하여 16% BPDM(biphenyl dimethacrylate)등을 acetone 또는 ethanol용매에 용해시켜 사용하고, bonding resin으로는 30% Bis-GMA, 40% UDMA 및 43% HEMA등을 함유하고 있다.

이중 HEMA는 수년간 상아질 접착제에 함유되어 왔다. 흔히 접착성 레진과 접착강화제에 함유되어 (30 - 55%) 점성을 감소시키고 상아질에 대한 결합력을 증가시키며<sup>31)</sup>, 친수성과 소수성의 두성질을 갖고 있기에 산처리후에 methacrylated-based monomer의 상아질로의 확산을 촉

진, 도말층에 침투하여 접착성 레진과 공중합에 참여할 뿐 아니라 이러한 침투가 hybrid layer or resin-dentin interdiffusion zone을 형성하게 하여 상아질에 대한 미세 기계적, 화학적 결합을 증가시키는 역할을 한다.

HEMA와 같은 레진 단량체의 사용이 상아질에 대한 복합레진의 결합력을 증가시키는 것은 사실이지만 Pashley 등<sup>45)</sup>은 최근에 불완전한 impregnation에 의해 야기된 혼합층(hybrid layer)내에 fluid-filled channel 이 존재하여 HEMA 같은 수용성 성분들은 쉽게 상아세관을 통해 확산되어 치수의 상아모세포층에 영향을 끼칠수 있다고 보고하였다. 더우기 HEMA는 높은 수용성에다 낮은 분자량(MW = 130)이고 diffusion coefficient가 커서 다른 레진 성분보다도 상아질을 통해 빠르게 확산이 가능하다<sup>39)</sup>.

본 실험에서도 복합레진 중합후 4.32분후에 모든 치아의 치수강에서 HEMA가 검출되었으며 초기에 높은 유리속도를 보이다가 시간이 지남에 따라 감소하여 1일후부터는 아주 미세한 양만이 검출되었다.

HEMA와 같은 단량체의 상아질을 통한 치수로의 확산은 주로 상아세관을 통해서 이루어지기에 만약 상아세관이 도말층에 의해 막히면 상아질 투과성은 감소되고, 도말층이 제거될 경우에는 투과성이 증가하게 된다.

Hansen 등<sup>46)</sup>은 37%인산으로 20초간 상아질을 처리하여 도말층을 제거했을 경우 상아질의 hydraulic conductance가 거의 3배나 증가한다고 하였다. Hamid 등<sup>40)</sup>도 산으로 상아질을 처리시 전반적으로 HEMA의 초기 확산속도와 전체적인 HEMA의 총량이 증가함을 보였으며 본 실험에서는 10%, 32%, 35% 인산겔로 15초간 처리시 대조군(no acid group)에 비해 평균적인 유리속도나 누적된 양에 있어서 대체로 약간은 증가하는 추세를 보였으나 통계적으로 유의성있는 차이는 보이지 않았다( $P > 0.05$ ).

Bouillaguet 등<sup>47)</sup>은 'in vitro diffusion chamber'를 이용하여 산부식된 상아질 삭편을 통한 HEMA의 치수로의 확산을 측정할 결과 상아질 삭편의 두께와 치수내압이 증가할수록 HEMA의 확산이 감소되게 되는데, 일반적인 상아질 결합제의 HEMA농도(50% HEMA solution)인 4000 mmol/L를 1mm두께의 상아질에 30분 적용할 경우 ~ 2,500배(no convective pressure) 또는 20,000배(10cm H<sub>2</sub>O of pressure) 희석되어 치수에 도달하는 농도는 실제로 0.2 - 1.6mmol/L가 되어 이 정도의 농도로는 acute cytotoxicity를 유발하지 않는다고(2 - 3mmol/L HEMA에 12시간 노출시 섬유아세포에 미약한 세포독성 유발) 보고하였다.

본 실험에서 10일째 HEMA의 평균적인 누적된 양은 1군(10% 인산겔)이  $9.5315 \pm 6.9550$ nmol, 2군(32% 인산겔)이  $15.8455 \pm 4.5658$ nmol, 3군(35% 인산겔)은  $13.0773 \pm 8.4479$ nmol, 4군 대조군이  $9.2973 \pm 8.3704$

nmol로 Bouillaguet 등<sup>47)</sup>이 보고한 HEMA의 농도에 비해서는 현저히 적은 양으로 치수내압이 고려된다면 실제로는 치수에 도달하는 HEMA의 양은 더욱 적을 것으로 사료된다.

따라서 이 양으로는 치수에 대한 급성 세포독성반응을 일으킬 가능성이 적으나 남아있는 상아질 두께가 얇을수록, 노출시간이 길수록, 중합이 불완전할수록 보다 세포 독성반응을 유발할 가능성이 증가될 것으로 사료되며 치아 과민성, 보체 활성화, 상아모세포의 유전자발현 변화등 다른 종류의 위해한 반응을 일으킬 가능성을 배제할 수 없기에 상아질 결합제와 복합레진의 중합 후 잔류미반응 단량체를 최소로 하기 위한 연구는 물론 치수에 자극을 주지 않는 단량체의 개발 노력이 지속적으로 이루어져야 될 것으로 본다. 상아질을 통한 독성물질의 확산속도는 물질의 농도와 화학적 특성 및 분자량, 남아있는 상아질의 두께, 확산에 유용한 상아질 면적, 상아세관의 수와 직경, 온도와 관계가 있으며 또한 치수내압(positive pulpal pressure)이 물질의 확산되는 정도를 감소시키는데, 본 실험에서는 실험 치아간의 상아세관 수등이 일치되지 않아 실험상의 오차가 클 것으로 예상된다. 따라서 실험상의 오차를 줄이기 위해서는 대상 치아 연령의 일치와 치수내압이 고려되어야 할 것으로 사료된다.

## V. 결 론

상아질을 통한 HEMA의 확산에 인산농도가 미치는 영향을 알아보기 위하여 발거된 지 1주일 이 경과되지 않은 사람의 제 3대구치 40개를 선정하여 각 10개씩 4군으로 분류한다. 각 치아의 외동에 10%, 32%, 35%의 인산겔로 15초간 산부식하고(대조군은 산처리를 하지않고) All-Bond 2 상아질 결합제와 Z-100 복합 레진으로 충전한 다음 상아질을 통해 치수강의 증류수(4.32, 14.4, 43.2, 144, 432분; 1, 3, 10일 간격으로 교체)로 유출되는 HEMA의 양을 HPLC를 통해 정량분석 하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 복합레진 수복후 4.32분후에 모든 치아의 치수강에서 HEMA가 검출되었으며, 0 - 4.32분 구간에서 HEMA의 유리속도가 가장 높았고 그후 점차 감소하여 1일 후에는 미세한 양만이 검출되었다.
2. 평균적인 유리속도 비교시 10, 32, 35% 인산겔, 대조군 사이에 유의할 만한 차이가 없었다( $p > 0.05$ ).
3. 시간별 HEMA의 평균적인 유리속도 비교시 4.32-14.4분 구간에서 32% 인산겔 군이 10% 인산겔 군에 비해 통계적으로 유의성 있게 높았으나( $p < 0.05$ ) 다른 구간에서는 유의성 있는 차이가 없었다.
4. 10일째 HEMA의 평균적인 누적된 양을 비교시 각 군간의 유의성있는 차이는 없었으며( $p > 0.05$ ), HEMA의 양

은 모든 군에서 9~16nmol 정도로 미약하게 검출되었다.

5. 시간별 누적된 양의 비교시 14.4-43.2분 구간과 43.2-144분 구간에서 32% 인산겔 군이 10% 인산겔군에 비해 유의성 있게 높았으나( $p < 0.05$ ), 그 외의 다른 구간에서는 유의성 있는 차이가 없었다.

### 참고문헌

1. McCabe J.F. : Development in composite resins. *Brit. Dent. J.*, 157:440-444, 1984.
2. Anderson D.A.F., Ferracane J.L., Zimmermann E.R. and Kaga M. : Cytotoxicity of variably cured light-activated dental composite. *J. Dent. Res.*, 67:226 Abs. 905, 1988.
3. 정선희, 정성수 : 복합레진의 세포독성에 관한 실험적 연구. *대한치과보존학회지*, 16:158-166, 1991.
4. Hembree J.H. Jr. : *In vitro* microleakage of a new dental adhesive system. *J. Prosthet. Dent.*, 55:442-445, 1986.
5. Abdalia, A. and Davison, C. : Shear bond strength and microleakage of new dentin bonding systems. *Am. J. Dent.*, 6(6):295-298, 1993.
6. Chan, K.C. : Microleakage between Glass-Ionomer Cement and Composite Resins. *J. Esth. Dent.*, 4(4):114-116, 1992.
7. Barnes, D.M., Thompson, V.P., Blank, L.W. and McDonald, N.J. : Microleakage of Class 5 Composite Resin Restorations : a Comparison between in Vivo and in Vitro. *Oper. Dent.*, 18:237-245, 1993.
8. Ferrari, M., Finger, W.J. and Gesi, A. : Marginal Leakage of a New Adhesive Restorative System : A Preliminary In Vivo Investigation. *J. Esth. Dent.*, supp.(4):32-35, 1992.
9. Fitchie, J.G., Puckett, A.D., Reeves, G.W. and Hembree, J.H. : Microleakage of a new dental adhesive comparing microfilled and hybrid resin composites. *Quin. Int.*, 26(7):505-510, 1995.
10. Fortin, D., Perdigao, J. and Swift, E.J. : Microleakage of three new dentin adhesives. *Am. J. Dent.*, 7(6):315-317, 1994.
11. Buonocore, M.G. : A simple method of increasing the adhesion of acrylic filling materials to enamel surfaces. *J. Dent. Res.*, 34:849-853, 1955.
12. Prati C., Pashley D.H., and Montanari G. : Hydrostatic intrapulpal pressure and bond strength of bonding systems. *Dent. Mater.*, 7:54-58, 1991.
13. Pashley E.L., Talman R., Homer J.A. and Pashley D.H. : Permeability of normal versus carious dentin. *Endodont. Dent. Traumatol.*, 7:207-211, 1991.
14. Perinka L., Sano H., and Hosoda H. : Dentin thickness, hardness, and Ca<sup>+</sup> concentration vs. bond strength of dentin adhesives. *Dent. Mater.*, 8:229-233, 1993.
15. Elkins C.J., and McCourt J.W. : Bond strength of dentinal adhesives in primary teeth. *Quint. Int.*, 24:271-273, 1993.
16. Bowen R.L., Eick J.D., Henderson D.A., and Anderson D.W. : Smear layer : removal and bonding considerations. *Oper. Dent.*, Supplement 3:30-35, 1984.
17. Fusayama T., Nakamura M., Kurosaki N., and Iwaku M. : Non-pressure adhesion of a new adhesive restorative system. *J. Dent. Res.*, 58:1364-1370, 1979.
18. Nakabayashi N., Kojima K., and Masuhara E. : The promotion of adhesion by the infiltration of monomers into tooth substrates. *J. Biomed. Mater. Res.*, 16:265-273, 1982.
19. Gwinnett J.A. : Altered tissue contribution to interfacial bond strength with acid conditioned dentin. *Am. J. Dent.*, 7:243-246, 1994.
20. Wakabayashi Y., and Kondou Y. : Effect of dissolution of collagen on adhesion to dentin. *Int. J. Prosthodont.*, 7:302-306, 1994.
21. Suzuki K., Takahashi M., and Nakai H. : Treatment of dentin by aqueous solution of amino acid delivative-HEMA. *Adhesive Dentistry.*, 8:43-51, 1990.
22. Bowen R.L., Cobb E.N., and Rapson J.E. : Adhesion bonding of various materials to hard tooth tissues. Improvements in bond strength to dentin. *J. Dent. Res.*, 61:1070-1076, 1982.
23. Abe Y. : Relation between interpenetration and bond strength to dentin with 4-META, Phenyl-p, HNPM and 4-META/MMA-TBB resins. *J. Jpn. Soc. Dent. Mater. and Dev.*, 5:839-851, 1986.
24. Munksgaard E.C., and Asmussen E. : Bond strength between dentin and restorative resins mediated by mixtures of HEMA and glutaraldehyde. *J. Dent. Res.*, 63:1087-1089, 1984.
25. Hume W.R., Gerzina T.M. : Release of monomers from bonding resin-composite resin combinations through dentin *in vitro*. *J. Dent. Res.*, 73:224, 1994
26. Gerzina T.M., Hume W.R. : Effect of hydrostatic pressure on the diffusion of monomers through dentin *in vitro*. *J. Dent. Res.*, 74:369-373, 1995.
27. Gerzina T.M., Hume W.R. : The effect of dentin on the release of TEGDMA from resin composite *in vitro*. *J. Oral Rehabil.*, 21:463-468, 1994.
28. Hanks C.T., Craig R.G., Diehl M.L., Pashley D.H. : Cytotoxicity of dental composites and other materials in a new *in vitro* device. *J. Oral. Pathol.*, 17:396-403, 1988.
29. Bruce G.R., McDonald N.J., Sydiski R.J. : Cytotoxicity of retrofill materials. *J. Endodon.*, 19:288-292, 1993.
30. 임미경, 이정호, 김상섭 : 상아질 결합제의 L929 세포독성에 관한 연구. *대한치과보존학회지*, 22(1): 209-227, 1997.
31. Nakabayashi N., Takarada K. : Effect of HEMA on bonding to dentin. *Dent Mater.*, 8:125-130, 1992.
32. Pashley D.H., Kepler E.E., Williams E.C., *et al.* : The effects of acid etching on the *in vivo* permeability of dentin in the dog. *Archs Oral Biol.*, 28:555-559, 1983.
33. Hume W.R. : A new technique for screening chemical toxicity to the pulp from dental restorative materials and procedures. *J. Dent. Res.*, 64:1322-1325, 1985.
34. Fujitani M., Inokoshi S., Hosada H. : Effect of acid etching on the dental pulp in adhesive composite restorations. *Int. Dent. J.*, 42:3-11, 1992.
35. Rathbun M.A., Craig R.G., Hanks C.T., Filisko F.E. : Cytotoxicity of a Bis-GMA dental composite before and after leaching in organic solvents. *J. Biomed Mater Res.*, 25:443-457, 1991.
36. Hanks C.T., Strawn S.E., Wataha J.C., Craig R.G. : Cytotoxic effects of resin components on cultured mammalian fibroblasts. *J. Dent. Res.*, 70:1450-1455, 1991.
37. Rueggeberg F.A., Tamareselvy K., Ergle J.W. : Network conversion and leachability of Bis-GM A/TEGDMA copolymers(abstract). *J. Dent. Res.*, 74:183, 1990.
38. Hanks C.T., Wataha J.C., Parsell R.R., Strawn S.E., Fat J.C. : Permeability of biological and synthetic molecules through dentin. *J. Oral. Rehabil.*, 21:475-487, 1994.
39. Gerzina T.M., Hume W.R. : Diffusion of monomers from bonding resin-resin composite combinations through dentin *in vitro*. *J. Dent.*, 24:125-128, 1996.



40. Hamid A., Sutton W., Hume W.R. : Variation in phosphoric acid concentration and treatment time and HEMA diffusion through dentin. *Am. J. Dent.*, 9:211-214, 1996.
41. Pashley DH. : Combination of dentin permeability in cytotoxicity testing. *Int. Endod. J.*, 21:143-154, 1988.
42. Hörsted-Bindslev P. : Monkey pulp reactions to cavities treatment with Gluma dental bond and restored with a microfilled composite. *Scan. J. Dent. Res.*, 95:347-355, 1987.
43. Meryon SD and Brook AM. : In vitro cytotoxicity of three dentin bonding agents. *J. Dent.*, 17: 279-283, 1989.
44. Hanks C.T., Wataha J.C., Parsell R.R., Strawn S.E. : Delineation of cytotoxic concentrations of two dentin bonding agents *in vitro*. *J. Endod.*, 18:589-596, 1992.
45. Pashley D.H., Ciucchi B., Sano H., Horner J.A. : Permeability of dentin to adhesive agents. *Quin. Int.*, 24:618-631, 1993.
46. Hansen S.E., Swift E.J.Jr., Krell K.V. : Permeability effects of two dentin adhesive systems. *J.Esthet. Dent.*, 4:169-172, 1992.
47. Bouillaguet S., Wataha J.C., Hanks C.T., Liucchi B., Holz J. : In vitro cytotoxicity and dentin permeability of HEMA. *J. Endod.*, 22(5):244-248, 1996.