

## 상아질-레진 계면의 공초점 현미경적 형태 및 전단결합강도와와의 관계

최낙원 · 조병훈 · 손호현

서울대학교 치과대학 치과보존학교실

### ABSTRACT

#### CONFOCAL LASER SCANNING MICROSCOPIC MORPHOLOGY OF DENTIN-RESIN INTERFACE AND ITS RELATIONSHIP WITH SHEAR BOND STRENGTH

Nak-Won Choi, D.D.S., Byeong-Hoon Cho, D.D.S., M.S.D., Ph.D.,

Ho-Hyun Son, D.D.S., M.S.D., Ph.D

*Department of Conservative Dentistry, College of Dentistry, Seoul National University*

In this in vitro study, confocal laser scanning microscopic morphology of dentin-resin interface and its relationship to shear bond strength were investigated after the exposed dentin surfaces were treated with 3 different kinds of dentin adhesive systems(three-step; Scotchbond Multi-Purpose Plus(SMPP), self-priming bonding resin; Single Bond(SB), self-etching primer; Clearfil Liner Bond 2(LB2)). 52 extracted human molar teeth without caries and/or restorations. The experimental teeth were randomly divided into three groups of seventeen teeth each. In five teeth of each group, class V cavities(depth: 1.5mm) with 90° cavo-surface angles were prepared at the cemento-enamel junction on buccal and lingual surfaces. Bonding resins of each dentin adhesive system were mixed with rhodamine B. Primer of SMPP was mixed with fluorescein. In group 1, the exposed dentin was conditioned with etchant, applied with above primer and bonding resin of SMPP. In group 2, with etchant and self-priming bonding agent of SB. In group 3, with self-etching primer and bonding agent of LB2. After treatment with dentin adhesive systems, composite resin were applied and photocured. The experimental teeth were cut longitudinally through the center line of restoration and grounded so that about 90 $\mu$ m-thick wafers of buccolingually orientated dentin were obtained. And, 70~80 $\mu$ m-thick wafers sectioned horizontally, thus presenting a dentinal tubules at 90° to the cut surface of a remaining tooth, were obtained. Primer of SMPP mixed with rhodamine B was applied to these wafers. Confocal laser scanning microscopic investigations of these wafers were done within of 24 hours after treatment.

To measure shear bond strength, the remaining twelve teeth of each group were grounded horizontally below the dentinoenamel junction, so that no enamel remained. After applying dentin adhesive systems on the dentin surface, composite was applied in the shape of cylinder. The cylinder was 5mm in diameter, and 2mm in thickness. Shear bond strength was measured using Instron with a cross-head speed of 0.5mm/min.

It was concluded as follows :

1. Hybrid layer of SMPP(mean: 4.56 $\mu$ m) was thicker than that of any other groups. This value was not statistically significant thicker than that of SB(mean: 3.41 $\mu$ m,  $p>0.05$ ), and significant thicker than that of

LB2(mean: 1.56 $\mu$ m, p<0.05). There was a statistical difference between SB and LB2(p<0.05).

2. Although there were variations in the length of resin tag even in a sample, and in a group, most samples in SMPP and SB showed resin tags extending above 20 $\mu$ m. But samples in LB2 showed resin tags of 10 $\mu$ m at best.
3. Besides primer's infiltration into demineralized peritubular dentin and dentinal tubules, fluorophore of primer was detected in the lateral branches of dentinal tubules.
4. All groups demonstrated statistically significant differences from one another(p<0.05), with shear bond strengths given in descending order as follows: SMPP(18.3MPa), SB(16.0MPa) and LB2 (12.4MPa).
5. LB2 having thinnest hybrid layer(1.56 $\mu$ m) showed the lowest shear bond strength(12.4MPa).

**Key Words :** Confocal Laser Scanning Microscope, hybrid layer, resin tag, Shear bond strength

## I. 서 론

상아질 접착에 관한 연구가 진행되면서 접착 기전과 접착 계면의 성상을 규명하려는 노력이 계속 되고있다. 그러나, 법랑질에 비해 상아질 자체의 복잡한 조직학적 구조와 다양한 성분에 의해 많은 어려움이 있었다. 즉, 상아질은 상아세관 및 상아세관액, 무계비 18%의 유기질 그리고, 무계비 13%의 수분으로 구성되어 있으며, 와동 형성시 생기는 도말층의 존재등으로 상아질 접착은 예측하기 어려운 결과를 보여왔다<sup>1)</sup>.

상아질 접착에서 칼슘 이온과의 화학적 결합을 이용하는 제 1 세대 및 2 세대의 접착제는 상아질 자체가 아닌 도말층과의 결합이어서 복합레진의 중합수축으로 인한 응력을 감당할 수 없는 정도의 결합력밖에 갖지 못했다. 그러나, 상아질 처리제(dentin conditioner) 혹은 primer로 도말층을 제거하거나 변형시키는 방법으로 미세기계적 유지를 얻는 제 3 세대에 이르러서는 법랑질과의 결합력에 근접하는 정도의 비약적인 결합력의 증가를 보였다<sup>1,2)</sup>.

90년대에 들어와서는 상아질 표면을 산으로 처리하는 것이 치수에 위해하지 않음이 입증되면서<sup>3)</sup> 상아질과 법랑질을 동시에 산부식시키는 "total-etch" 술식이 개발되어<sup>4)</sup> 제 4 세대 상아질 접착제의 근간이 되었다. 이것의 결합 원리는 미세기계적 interlocking으로서 즉, 산 성분이 상아질 표면을 탈회하여 임계 표면장력(critical surface tension of wetting)이 낮아진 상아질 표면을 primer가 접착레진의 표면장력보다 약간 높은 상태로 다시 복귀시키고<sup>5)</sup> 남아있는 교원질 망상구조에 스며들면 이후 접착레진이 이 층에 침투해서 교원질과 함께 영긴 상태로 중합되어 혼성층(hybrid layer)을 형성한다는 것이다<sup>1,5,6)</sup>. 혼성층 형성에 의한 결합은 최근 대다수 상아질 접착제(Dentin Adhesive System)의 주된 원리이며 Gwinnett<sup>7)</sup>은 상아세관 주위의 관주 상아질 및 관간 상아질의 혼성화(hybridization)가 레진과 상아

질의 결합에 있어 본질적인 부분이라 하였다.

이러한 상아질 접착 시스템은 상아질 전처리 과정으로서 산부식, priming, 접착레진 도포의 3 단계 과정을 필요로 하여 임상 술식이 복잡하고 결과가 기술 의존적이었다. 이에 좀 더 간단한 단계의 술식으로 구성되는 시스템으로서 최근, 제 5 세대 접착제로 불리는 self-priming 접착제가 개발되었는데 primer와 접착레진이 하나의 용기에 담겨 공급되기 때문에 도포 시간도 단축되고 임상에서의 사용이 편리하다. Self-Priming 접착제의 priming bonding agent는 산부식된 상아질 표면을 적시기에 충분할 정도의 친수성 용액으로서 교원질 망상구조와 상아세관에 스며든 후 용매가 증발되고 중합과정을 거치게된다<sup>8)</sup>. 술식을 간단히 할 수 있는 다른 방법으로 self-etching primer 제재를 사용할 수 있다. Nakabayashi<sup>9)</sup>는 상아질 접착의 질의 중요한 요소로서 산부식에 의한 상아질 탈회 깊이와 칼슘이 빠져나간 상아질 부위에 단량체가 확산되는 정도를 지적하였다. 그런데, 상아질 탈회 깊이는 산부식제의 pH, 농도, 점조도, 도포 시간등에 따라 달라지고 상아질의 성질에도 영향을 받아 항상 일정하지 않다<sup>10,11)</sup>. 만약 탈회 깊이가 단량체의 확산 거리보다 크다면 hydroxyapatite가 없는 교원질 섬유가 탈회된 상아질 심부에 존재하게되어 가수분해에 민감해지고 미세 누출을 야기하면 결국 결합력에서도 문제를 일으키게 된다<sup>9)</sup>. 그래서, 이런 탈회 깊이와 단량체 확산 정도의 차이를 없애면서 다른 3 단계 시스템보다 간단한 방법으로 self-etching primer를 사용하고 있다<sup>9,12)</sup>.

이러한 상아질 접착제를 사용할 때, 거의 모든 경우 생성된다고 보고되고 있는 혼성층은 resin tag와 더불어 상아질과 접착레진간의 계면 연구 분야에서 오래전부터 주 관찰대상이 되어왔다<sup>8,12,13)</sup>. 그리고, 최근에는 adhesive lateral branch의 역할에 관한 연구도 보고되었다<sup>12-14)</sup>. 계면의 형태학적, 물리적<sup>15)</sup>, 화학적인<sup>16)</sup> 연구외에 결합력 측정<sup>17,18)</sup>과 미세 변연 누출 평가 그리고, 상아질과 수복재간의 변연 이개

(marginal gap) 평가<sup>19)</sup> 등은 상아질 접착제의 결합의 질을 평가하는데 중요하다.

상아질과 상아질 접착제와의 결합에서 혼성층의 중요성이 인식되면서 다양한 연구방법이 응용되고 있다. Fourier transform infrared photoacoustic spectroscopy (FTIR/PAS)<sup>16)</sup>, Auger electron spectroscopy<sup>20)</sup> 그리고, Micro-Raman spectroscopy<sup>21)</sup> 등과 같이 혼성층을 화학적 측면에서 접근하는 연구도 보고되었으나 대다수의 연구는 주사 전자 현미경 (Scanning Electron Microscope, SEM)<sup>11,13)</sup> 과 투과 전자 현미경 (Transmission Electron Microscope, TEM)<sup>22)</sup> 을 이용하여 혼성층을 형태학적으로 연구하였다. 또한 혼성층과 resin tag, adhesive lateral branch 같은 형태학적 결과와 결합력과의 연관성을 살피는 연구도 보고되었다<sup>12,13,18,22,29)</sup>. 형태학적 연구는 결합의 성질을 완전히 파악하는데 충분하지는 않지만 Van Meerbeek 등<sup>15)</sup> 이 실시한 혼성층의 Modulus of elasticity 측정같은 물리적 연구 그리고, 앞서 언급한 화학적 연구와 더불어 상아질 접착 연구의 기본적인 접근 방법이 되고 있다. 현재도 형태학적인 연구 방법이 계속 개발되고 있는데 그 중 하나가 공초점 레이저 주사 현미경 (Confocal Laser Scanning Microscope, CLSM) 을 이용하는 것이다. TEM은 포매 과정, SEM은 부식 과정을 거친 시편을 사용하는데 이러한 과정들은 구조의 변형을 가져올 수 있고 시편 제작 과정도 복잡하다. 90년대 들어와서, 형광 염료로 염색한 시편을 관찰하는 공초점 레이저 주사 현미경이 치의학에도 도입되어 상아질의 구조를 파악하는데 유용한 방법으로 인식되고 있다<sup>23)</sup>. 공초점 현미경의 장점으로는 관찰 가능한 깊이가 시편 표면하 100 μm 정도까지이므로 시편제작 과정에서 구조가 변형될 가능성이 적다. 게다가 전통적인 SEM이나 TEM에서 꼭 필요

한 시편 건조 과정이 필요 없어 수축의 위험이나 artifact도 줄어든다<sup>24)</sup>. Watson과 Boyde<sup>26)</sup> 가 CLSM을 이용해서 상아질 표면에서 접착제의 움직임 연구한 것을 시작으로 하여 지금은 접착 시스템의 각 성분에 각기 다른 형광 염료를 혼합하여 관찰하기에까지 이르렀다<sup>24,25)</sup>.

이에 본 연구에서는, 각기 다른 상아질 전처리 방식을 갖고 있는 3가지의 상아질 접착제 즉, 3 단계 제재, self-etching primer 제재 그리고, self-priming bonding 제재를 사용하였을 때 상아질과 접착제간의 계면을 공초점 레이저 주사 현미경으로 관찰하고 혼성층의 후경을 측정, 비교하였으며 또 이 결과를 전단결합강도와 관련시켜 비교하여 다소의 지견을 얻었기에 보고하는 바이다.

## II. 실험재료 및 방법

### 1. 실험 재료

우식증과 수복물이 없는 52개의 상, 하악 대구치를 대상으로 하여, 상아질 접착제는 3 단계 시스템인 Scotchbond Multi-Purpose Plus (SMPP), self-priming 접착 시스템인 Single Bond (SB) 그리고, self-etching primer 시스템인 Clearfil Liner Bond 2 (LB2) 를 사용하였다. 실험에 사용된 상아질 접착제의 명칭과 구성요소 및 주요성분, 제조 회사 및 제품 번호는 Table 1에 표시하였다. 수복용 복합레진은 SMPP와 SB의 경우 Z-100 (Batch No.: 7JM, 3M Co. Dental Products., St. Paul, MN, USA) 을 사용하였고, LB2의 경우엔 Clearfil AP-X (Batch No.: 0460, Kuraray, Osaka, Japan) 를 사용하였다.

Table 1. Dentin adhesive systems used in this study

Products		Components	Batch No.	Manufacturers
Scotchbond Multi-Purpose Plus (SMPP)	Etchant	35% phosphoric acid	5BY	3M Dental
	Primer	HEMA, polyalkenoic acid	5JT	Products Division, St. Paul, MN, USA
	Bonding resin	MDP, Bis-GMA, HEMA	5CH	St. Paul, MN, USA
Single Bond (SB)	Etchant	35% phosphoric acid	7RH	3M Dental
	Bonding resin	Bis-GMA, HEMA, copolymer of polyalkenoic acid, GDMA, ethanol	7AH	Products Division, St. Paul, MN, USA
Clearfil Liner Bond 2 (LB2)	Primer	phenyl-P, HEMA, 5-NMSA	A: 026 B: 034	Kuraray Co. Ltd, Osaka, Japan
	Bonding resin	MDP, HEMA, Bis-GMA, microfiller	0040	

HEMA = 2-Hydroxyethylmethacrylate

Bis-GMA = bisphenol-A glycidyl methacrylate

5-NMSA = N-Methacryloyl-5-aminosalicylic acid

phenyl-P = 2-Methacryloyloxyethyl phenyl hydrogen phosphate

MDP = 10-Methacryloyloxydecyl dihydrogen phosphate

## 2. 실험 방법

### 1) CLSM을 이용한 혼성층 후경 측정 및 계면 형태

발거 후 1개월이 지나지 않은 우식증과 수복물이 없는 하악 구치 15개를 실험 전까지 0.5% Chloramine-T 용액에 보관하였다. 치아의 협면 및 설면 중앙부의 백악법랑 경계부에 원통형의 다이아몬드 bur(Inlay-Preparations-Set 4261, Komet)를 사용하여 90도의 와동 변연각을 가지는 박스 모양의 5급 와동(깊이: 1.5mm)을 형성하였다. 3가지 상아질 접착제를 각 제조 회사의 지시(Table 2)대로 형성된 와동에 적용하였다. 이 때 SMPP의 primer에는 sodium fluorescein (Sigma Aldrich Co., USA)을, 접착레진에는 rhodamine B(Sigma Aldrich Co., USA)를, 그리고 SB와 LB2의 경우엔 접착레진에만 rhodamine B를 혼합하여 각 상아질 접착제당 협면 및 설면 5개씩의 총 10개 와동에 도포하고 복합레진으로 수복, 광중합하였다. 광조사기(VisiLux, 3M Dental Products Division, USA)의 강도는 광도측정계(Demetron Research, USA)로 550 - 600mW/cm<sup>2</sup>의 범위내에 있음을 확인하였다.

수복된 치아를 교정용 레진에 매몰하여 다이아몬드가 입혀진 띠 모양의 톱날을 이용해서 치아 장축 방향으로 절단하였다(Exakt Cutting-Grinding System, Exakt Apparatebau, Norderstedt, Germany). 절단시, 협측과 설측의 수복재가 하나의 절편에서 모두 관찰되도록 방향을 잡았다. 이렇게 하여 150 $\mu$ m 정도의 후경을 지닌 절편을 얻은 다음, 연마기에서 SiC grit 800까지 연마하여 후경이 100 $\mu$ m 이하인 시편을 얻었다. 한편, primer가 상아질에 침투한 모습을, 측면이 아닌 상아세관의 주행 방향과 같은 방향에서 관찰하기 위해 단면이 상아세관의 주행 방향과 직각

을 이루는 약 70 - 80 $\mu$ m 후경의 상아질 시편을 얻은 후, SMPP의 primer에 rhodamine B를 혼합하여 적용하였다.

공초점 레이저 주사 현미경(Carl Zeiss, LSM410, Germany)으로 관찰할 때까지 시편 내부의 형광 염료의 형광성이 저하되는 것을 막기 위하여 시편을 빛이 차단된 냉동실에 보관하였다. 관찰시 primer와 접착레진에 혼합된 형광 염료가 확산된 양상을 관찰하기 위해 각 형광 색소를 구별할 수 있는 파장의 filter를 사용하였다. Fluorescein인 경우엔 488nm excitation filter와 520nm pass(barrier) filter를 사용했고 rhodamine의 경우는 543nm excitation filter와 600nm pass filter를 사용하였다. Oil immersion objective는 40 $\times$ , numerical aperture는 1.3이었다.

### 2) 전단결합강도 측정

발거 후 12시간이 지나지 않은 우식증이나 수복물이 없는 36개의 상, 하악 대구치를 실험전까지 0.5% chloramine 용액에 보관하였다. 치아들의 치관부만 남겨두고 몰드에 교합면이 몰드바닥과 평행하게 치근부를 교정용 레진에 식립하였다. 각 치아들은 Pedemet Specimen Preparation Equipment(Struers, Copenhagen/Denmark)를 이용하여 주수하에 SiC grit 500까지 연마하여 편평한 상아질 표면을 노출시켰다. 모든 치아에서 법랑질이 연마면에서 완전히 없어지는 시점을 기준으로 하여 연마를 완료했다. 이 때 노출된 상아질의 면적이 직경 5mm 이상이 되는 것을 확인하였다. 상아질 접착제와 결합시킬 상아질 표면의 면적을 일정하게 하기 위해 양면 접착 테이프에 직경 5.0mm의 천공을 만들어 상아질면에 접착시켰다. 임의로 12개씩 3개의 군으로 나눈 후, 각 상아질 접착제의 제조 회사의 지시에 따라 접착레진까지 도포하여 광조사하였다.

**Table 2.** Application steps of each dentin adhesive system

Application steps	SMPP	SB	LB2
apply etchant	15 sec.	15 sec.	-
rinse	10 sec.	10 sec.	-
blot-dry with air/cotton pellet	leave surface wet	leave surface wet	-
apply primer	apply with small brush/sponge	-	apply with small brush/sponge and wait for 30 sec.
blot-dry with air	dry gently until surface appears glossy	-	dry gently until surface appears glossy
apply bonding resin	apply with small brush/sponge	apply twice, dry with air for 2-5 sec. (surface appears glossy)	make the bonding resin film as uniform as possible using a gentle air stream
light cure	10 sec.	10 sec.	20 sec.

결합에 이용될 복합레진에 일정한 후경을 부여하기 위해 내부 직경이 5mm이고 후경이 2mm인 금속 고리를 사용하였다. 이 고리를 상아질 면에 부착된 양면 테이프에 꼭 맞게 부착시킨후 복합레진을 2회에 나누어 분할 충전하였으며, 총 광조사 시간은 60초였다. 이후 금속고리를 제거하고 시편은 24시간 동안 상온의 증류수에 보관하였다.

시편을 ISO 표준에 따라 제작한 시편고정대(mounting jig)에 고정시킨 후, 만능시험기(Model 4466, Instron Corp., Canton, MA, 02021, USA)를 이용하여 결합강도를 측정하였다. 시편고정대에 위치한 결합시편에 분당 0.5mm의 속도로 압축하중을 가하여 상아질로부터 복합레진 시편이 분리될 때의 최대하중(Kg)을 구하고 이를 단위면적당 결합강도(MPa)로 환산하였다.

얻어진 자료는 통계처리 프로그램인 Jandel사의 Sigmastat를 이용하여  $p=0.05$  유의수준에서 ANOVA one-way test를 시행하고 군간의 비교를 위해 Student-Newman-Keuls test를 시행하였다.

### III. 실험결과

#### 1) CLSM을 이용한 혼성층 후경 측정 및 계면 형태

혼성층의 후경은 상아세관과 계면이 직각이 되는 부위에서 측정하였는데 그 결과는 Table 3에 표시하였다. 혼성층의 후경은 SMPP(Fig. 2)와 SB(Fig. 3)군과의 사이에서만 통계학적으로 유의한 차이가 없었고 LB2(Fig. 4)와 다른 군간에는 통계학적으로 유의한 차이가 있었다. 각 접착제에 따른 resin tag의 길이는 동일 군내에서, 또는 동일 시편 내에서도 많은 차이를 보였다. 그러나 전체적으로 보면 LB2군에서 다른 두 군보다 훨씬 짧은 resin tag를 관찰할 수 있었다. LB2군의 모든 시편에서는 resin tag가 10 $\mu$ m을 넘지 않았다. 그러나, 다른 두 군에서는 20 $\mu$ m이상의 resin tag가 관찰되며 때로는 30 $\mu$ m까지 연장되는 모습도 관찰되었다.

상아세관이 계면과 수직을 이루도록 제작된 상아질 절편을 rhodamine B가 혼합된 SMPP의 primer로 처리하여, 산부식된 상아질 표면과 평행하게 상아질 표면하 2(Fig.

5a), 4(Fig. 5b), 6(Fig. 5c) $\mu$ m에서 각각 optical section하여 관찰한 바, 하부로 내려갈수록 관간 상아질에서 감지되는 형광은 줄어들고 상아세관 안에서도 직경은 작아져 resin tag가 뒤집어진 원추 형태를 하고 있음을 알 수 있었다. 표면하 2 $\mu$ m 절단면에서는 상아세관의 관주 상아질이 거의 관찰되지 않았다. 표면에서 하방으로 내려갈 수록 관주 상아질의 모습이 뚜렷해졌다. 다른 시편에서 0.5 $\mu$ m간격으로 16번 optical section하여 관찰한 것을 3차원 영상으로 조합한 결과 깔대기 모양의 침투양상은 더욱 확실히 관찰할 수 있었고 약하게나마 형광을 발하는, 상아세관에서 옆으로 연장된 측방분지를 관찰할 수 있었다(Fig. 6).

#### 2) 전단결합강도의 측정

3종의 상아질 접착제를 이용하여 우식과 충전물이 없는 36개의 상,하악 구치의 상아질에 복합 레진을 결합시킨 후 전단결합강도를 측정한 결과, 표 4와 같은 결과를 얻었다(Fig. 1). 3종의 상아질 접착제 사이에 모두 통계학적으로 유의한 차이가 있었다( $p<0.05$ ).

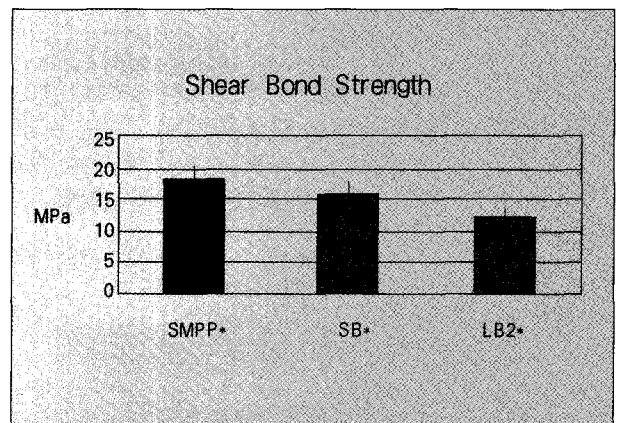


Fig. 1. Shear Bond Strength of the Dentin Adhesive Systems tested. \* indicates statistically significant differences( $p<0.05$ ).

Table 3. Thickness( $\mu$ m) of hybrid layer (Mean  $\pm$  SD, n=10)

Products	SMPP	SB	LB2*
Mean $\pm$ SD( $\mu$ m)	4.56 $\pm$ 1.55	3.41 $\pm$ 0.83	1.56 $\pm$ 0.62

\* indicates statistically significant differences( $p<0.05$ )

Table 4. Shear bond strength(MPa) of Dentin Adhesive Systems tested(n=12)

Products	SMPP*	SB*	LB2*
Mean $\pm$ SD(MPa)	18.3 $\pm$ 2.19	16.0 $\pm$ 2.77	12.4 $\pm$ 1.67

\* indicates statistically significant differences( $p<0.05$ )

#### IV. 총괄 및 고안

CLSM은 상아질-레진 계면을 관찰하는 새로운 방법중의 하나이다. 지금까지의 형태학적 연구는 주로 SEM이나 TEM을 이용하였는데, SEM과 TEM은 시편제작과정이 복잡하고 관찰면이 표면에만 국한된다. 이에 비해 CLSM은 탈수과정도 필요없고 표면뿐만 아니라 표면하 구조까지 관찰 가능하여 연마와 절단시 발생할 수 있는 표면의 기계적 결함의 가능성을 배제시킬 수 있는 특징이 있다. CLSM은 시편에서 원하는 지점에 광원인 laser와 detector의 초점을 동시에 일치시켜 초점에서 벗어난 이미지에 의한 간섭 현상을 최소화함으로써 이미지의 선명도를 극대화시킬 수 있다. 그리고 연속적 절편을 3차원적인 입체영상으로 제작할 수 있다는 장점이 있다. CLSM은 주로 세포생물학, 신경생리학등에 응용되고 있으나 90년대 들어와 치의학에도 도입되어 활용되고 있다. 상아질-레진 계면외에도 우식 상아질<sup>42)</sup>, 불소가 침착된 법랑질<sup>43)</sup>, 치아 경조직 형성시 시간의 경과에 따른 변화 관찰<sup>44)</sup>등에 사용되고 있다. CLSM과 SEM으로 혼성층의 후경을 관찰한 실험에서 두 관찰 방법에 따른 후경의 차이는 통계학적으로 유의하지 않았다<sup>45)</sup>. CLSM은 혼성층의 후경과 resin tag 길이 측정같은 수치의 측정에 유용한 방법으로 사료된다.

혼성층의 개념이 1982년, Nakabayashi<sup>5)</sup>에 의해 발표된 이후 혼성층의 의미를 밝히려는 연구가 지속적으로 진행되어왔다. 완전한 혼성화가 일어나면 결합력이 비약적으로 증가하고 형성된 층은 산에 저항성이 강해 상아질을 밀폐함으로써 과민증이나 이차 우식을 억제한다는 사실은 잘 알려져 있다. Gwinnett과 Kanca<sup>27)</sup>는 그들의 연구에서 혼성층의 형성이 결합력의 증가에 영향을 미친다고 하였다. 그러나, 이런 혼성층의 후경이 증가한다고 하여 결합력이 증가하는 것이 아니라는 주장들이 제기되었다<sup>28)</sup>. Nakabayashi등<sup>9)</sup>이 혼성층의 후경이 상아질 접착에서 그리 큰 비중을 차지하지 않을 것이라는 주장을 한 이외에도 Finger등<sup>31)</sup>, Yoshiyama 등<sup>29)</sup>도 이를 뒷받침 하는 연구들을 발표하였다. Gwinnett 등<sup>22)</sup>과 Uno등<sup>30)</sup>은 산부식후 생기는 노출된 교원질 층을 제거해도 결합력에는 영향을 끼치지 않는다고 하였다.

본 연구에서 SMPP의 혼성층 후경은 평균 4.56 $\mu$ m정도였고, SB의 경우는 평균 3.41 $\mu$ m정도로 측정되었고 두 재료간의 차이는 통계적으로 유의하지 않았다. 이 결과는 다른 연구에서 보고된 수치와 유사하였다<sup>8,12,13)</sup>. Finger등<sup>31)</sup>은 혼성층의 후경은 산부식에 의한 상아질 탈회 깊이와 산처리된 상아질에 침투하는 레진의 능력에 좌우된다고 하였다. 두 재료 모두 35% 인산으로 산부식을 하였기 때문에 혼성층 형성의 중요한 인자인 상아질 탈회깊이에서 큰 차이를 보이지 않았기 때문이라고 생각된다. LB2는 1.56 $\mu$ m의 후경을 보였는데, 얇은 혼성층 후경은 self-etching primer 접착

시스템의 특징이며 이 수치는 Ferrari등<sup>12)</sup>의 실험 수치와도 비슷하다. 그는 30초간 primer 도포 후의 혼성층의 후경은 대체로 0.5 - 1.5 $\mu$ m 정도였다고 보고하였으며 이 외의 다른 연구들도 본 실험의 결과와 비슷한 양상을 보였다<sup>12,13,29)</sup>. 산부식 과정이 따로 없는 self-etching primer 접착 시스템에서 primer는 도포 후 세척되지 않는 상태로 유지되어 primer의 산 성분이 어느 시점이 되면 탈회과정에서 용출된 칼슘과 포스페이트 이온에 의해 중화되고, 용출된 고농도의 이온들로 인하여 apatite의 용해가 억제되며 탈회는 스스로 제한적(self-limiting)이게 된다. LB2의 경우 혼성층이 얇은 것은 이와 같은 이유로 사료된다.

상아질, 법랑질과의 결합을 평가하는 일반적 방법이 치아와 수복재간 계면의 결합강도를 측정하는 것이다. 그러나, 결합강도에 영향을 미치는 인자로서 치아 기질, 보관 기간이나 보관액, 상아질 면처리의 화학적 또는 물리적 방법, 시편 제작 그리고, 시편 제작 후 결합력 측정까지의 기간등을 들 수 있는데, 이런 변수들로 인하여 상아질 접착의 결합강도 연구는 서로 비교하기 어렵다<sup>2)</sup>. 본 실험에서 SMPP를 기준으로하여 다른 두 가지 재료의 결합력을 비교하려 하였다. 그 이유로서 SMPP는 기질의 환경 즉, 상아질 표면의 수분상태에 따라 결합력이 큰 차이를 보이지 않고 지금까지 비교상대로서 발표된 자료가 이미 많이 있기 때문이었다. Swift와 Bayne<sup>32)</sup>은 많은 연구들에서 발표한 SMPP의 전단결합강도의 평균을 구하였는데, 약 20MPa의 값을 얻었다. 이는 본 실험의 수치와 비교했을 때, 약간 높은 수치를 보이고 있다. 그들이 행한 실험에서 Single Bond와 Scotchbond Multi-purpose Plus의 전단결합강도는 각각 19.2MPa, 23.1MPa로서 통계학적으로 유의한 차이는 없었다. 본 실험의 수치(SB:16.0MPa, SMPP:18.3MPa)를 모두 상회하는 값이지만 이들의 실험은 결합면적이 15.2mm<sup>2</sup>인 상아질 표면을 사용하였다. Sano등은 결합면적이 클수록, 결합강도가 감소한다고 주장하였는데, 이 점을 고려한다면 본 실험의 수치가 다른 실험과 크게 어긋나지 않는 결과를 보였다고 생각할 수 있다. 상아질 접착제의 결합강도는 접착레진 자체의 강도에 많이 좌우되는데, self-priming 접착 시스템은 3단계 제재보다 bonding resin내에 친수성 단량체를 많이 함유하고 있다. 이는 3단계 제재에서의 priming 과정이 생략되었기 때문에 산부식된 교원질 층에 효과적으로 스며들기 위해서는 self-priming 접착 시스템으로서는 불가피한 선택이다. 이런 조성으로 인해 단일 용기 제품은 3단계 제재보다 낮은 결합강도를 보이는 것으로 생각할 수 있다<sup>34)</sup>. LB2는 12.4MPa의 결합강도로 세군중에서 가장 낮은 결합력을 나타냈다. 현재 사용되는 "total-etch" 개념의 상아질 접착제는 도말층을 완전히 제거한다는 전제하에 사용하고 있으나 CLSM으로 관찰한 바에 따르면 혼성층의 후경이 얇고 resin tag의 길이가 짧은 것

으로 미루어 보아 LB2의 경우에는 완전히 도말층이 제거되지 않은 것으로 보인다. Watanabe등<sup>35)</sup>은 도말층이 존재하는 상아질에 접착시킨 후의 결합강도가 10.4MPa이라고 보고하였으며 거친 도말층은 레진에 의해 강화되더라도 아주 약한 구조이기 때문에 primer를 도포하기전에 완전히 도말층을 제거하는 것이 좋다고 보고하였다. Nakabayashi등<sup>39)</sup>은 self-etching primer의 성질에 대해 보고하면서 도말층이 존재할 경우, 1 $\mu$ m이상의 혼성층을 형성하려면 적어도 60초 이상의 primer 도포 시간이 필요하다고 했다. Ferrari등<sup>12)</sup>도 그의 실험에서 30초간 primer를 도포했을 때는 resin tag가 가늘고 짧은 형태를 가지며 상아세관의 입구를 완전히 폐쇄시키지 못했음을 밝히고 primer를 30초씩 2회에 걸쳐 도포한 경우 혼성층이 1 - 3 $\mu$ m 정도로 증가하며 resin tag가 길어지고 lateral branch도 관찰된다고 하였으며 도포 시간이 길면 변연 누출도 감소하는 것으로 보고하였다. 본 실험에서는 bur로 와동을 형성한 후, 바로 primer를 30초간 도포하였기 때문에 도말층이 완전히 제거되지 못했고 그 때문에 도말층 하방으로 상아세관에 침투하는 것도 충분하지 않았다. 관주 상아질의 탈회도 극히 제한된 양상이었다. LB2가 가장 낮은 결합강도를 보인 것도 도말층이 완전히 제거되지 못한데서 기인한다고 사료된다. 그러나, Barkmeier등<sup>36)</sup>은 primer 도포전의 도말층 제거과정 없이도 19.4 $\pm$ 3.1MPa의 전단결합강도를 보고하기도 했다. 본 실험에서는 SMPP와 SB의 혼성층의 후경이 통계학적으로 차이가 없고, LB2는 혼성층을 형성하는 개념이 다른 재료와 달리 절대비교가 불가능하여 혼성층의 후경과 결합강도 사이에 정확한 관계를 밝힐 수는 없었다.

근래엔 혼성층이 수복레진과 상아질사이에서 탄성 완충재 역할을 하며 수축으로 생기는 응력을 보완해서 수복물의 유지를 향상시킬 수 있다는, 혼성층의 다른 의미에 대한 보고도 있었다<sup>15,30)</sup>. 또, resin tag도 역시 혼성층의 붕괴를 방지하는 탄성체의 역할을 수행한다고 주장하였다<sup>15)</sup>. Resin tag가 결합력에 어느 정도까지 기여하는지도 아직 불분명하다. SEM에서 보이는 기다란 tag가 인상적으로 보이지만 Chappell과 Cobb등<sup>37)</sup>은 접착레진이 중합시 발생하는 수축으로 인해 상아세관에서 분리되어 결합력에 그다지 큰 영향을 끼치지 않을 것이라고 하였다. 또 Tagami등<sup>38)</sup>은 세관의 직경이 크고 수가 많은 치수쪽 상아질에서 주변부의 상아질에서보다 더 낮은 결합력을 보인다고 하여 결합력과 tag의 직경, 길이와는 관계가 없다고 주장하였다. 그러나, 이론적으로는 단량체가 고원질로 스며들어가 resin tag와 상아세관의 벽 사이에서 혼성화가 이루어지고, 산부식된 상아세관의 직경이 증가하여 resin tag의 직경도 같이 증가한다면 결합력도 따라서 증가할 수 있다<sup>18,39)</sup>. 실제로 Gwinnett<sup>7)</sup>은 파절시킨 상아질 시편과 도말층이 남아있는 상아질 시편에서 결합력을 비교했을 때, resin tag가 더욱

잘 형성되는 파절시킨 상아질 시편에서 높은 결합력을 낸다고 하였다. 또, SEM 연구에서 파절양상을 관찰했을 때, 근래의 상아질 접착제 사용시에는 대부분의 resin tag가 수복재를 따라 떨어져 나오는 것이 아니라 상아세관 입구에서 파절된다고 보고되고 있다<sup>40)</sup>. 이는 상아세관과 resin tag간의 결합력이 resin tag의 cohesive strength보다 크다는 것을 의미한다. Yoshiyama와 Sano등<sup>29)</sup>은 우식에 이환된 치아와 치경부의 마모된 부위에서의 결합력이 감소되는 것은 resin tag가 상아세관 내부에 형성되지 못하는 것에 기인한다고 하였다. 위의 보고들로 미루어 보아 resin tag가 일정부분 결합력에 관여한다고 사료된다<sup>39)</sup>. 최근 들어 상아질 깊이에 상관없이 결합력이 나타난다는 보고도 이어지고 있다. Prati등<sup>41)</sup>은 최근의 상아질 접착제의 경우엔 결합력과 잔존 상아질의 후경이 관계가 없다고 하였다. 높은 치수내 수압진도와 습윤성 때문에 낮게 나타난 결합력이 친수성의 단량체가 함유되면서 일부분 극복되고 있는 것이다. 만약 이런 장애가 극복되고 완전한 혼성화가 이루어진다면 resin tag의 직경과 길이는 결합력에 커다란 영향을 미칠 것이다. Prati등<sup>41)</sup>은 친수성이 강한 primer의 경우라면 관간 상아질 면적보다 세관의 표면적이 결합력에 더 중요한 지표가 될 것이라고 하였다. 그러나, resin tag의 길이가 길면 길수록 결합강도가 커지는 것은 아니다. Pashley등<sup>18)</sup>은 상아질과의 결합에서 상아세관에서 얻는 유지력이 resin tag의 cohesive strength를 넘어선다면 상아세관 폐쇄효과는 있을지언정 다른 효과는 기대할 수 없다고 하였다. 그 넘어서는 시점에서의 resin tag의 길이는 약 2 - 3 $\mu$ m이라 하였다. Gwinnett<sup>7)</sup>은 관간 상아질에 침투하는 레진이 전체 전단결합강도의 2/3에 기여하고 레진이 상아세관내로 침투하여 형성된 resin tag가 나머지 1/3정도에 기여한다고 하였다.

SMPP나 SB의 경우, resin tag의 길이는 20 $\mu$ m 이상이였다. Schübach등<sup>25)</sup>은 인공적으로 치수압을 설정한 상태에서 상아세관이 계면과 직각을 이루는 부위의 resin tag가 평균 27 $\mu$ m에 달한다고 하였다. 본 실험에서 얻은 수치는 체내에서의 치수압을 고려하면 Schübach등의 실험 수치에 비해 작은 것으로 사료된다. 그러나, 같은 시편 내에서도 곳에 따라 30 $\mu$ m을 넘어 100 $\mu$ m까지 연장된 tag도 관찰되어, blot-dry시킬 때의 압축 공기가 모든 면에 골고루 적용되지 않아서 생긴 차이로 생각되며 또 형광 염료와 접착레진이 화학적으로 결합한 것이 아니라 단순한 혼합에 그쳤기 때문에 정확한 분포를 보여주지 못해서, 실제로는 접착레진이 침투했을지라도 형광을 발하지 못했을 가능성도 있다. LB2의 resin tag의 길이는 모두 10 $\mu$ m 이하였다. 이 수치는 Ferrari등<sup>12)</sup>의 실험 수치와도 일치한다. 제거되지 않은 도말층으로 인해 레진이 상아세관에 침투하는 것이 제한을 받았을 것이며 2-3 $\mu$ m 정도의 resin tag도 형성되지 못한 상아세관이 존재하여 그에 따라 결합강도에 기여하는 정도도 약했을 것이

라고 사료된다. 혼성층에 접착레진이 침투하는 방법으로 primer가 상아세관뿐만 아니라 상아세관 사이의 분지(lateral branch)에도 침투하는 것이 최근 발표되고 있다<sup>13,14</sup>. Ferrari등<sup>13</sup>과 Chap-pell과 Cobb등<sup>37</sup>은 이 분지도 결합력 향상에 일조할 것이라고 주장했다. 본 실험에서 CLSM으로 상아질의 수평 절단면에서 상아세관을 측면이 아닌 상방에서 하방으로 내려가면서 광학적 절편(optical section)을 만들어 다른 각도로 관찰한 바, 상아세관에서 옆으로 가는 다란 연장선을 내는 형태가 관찰되었다(Fig. 6). 이 형태는 adhesive lateral branch를 나타내는 것으로 사료된다.

본 실험에서는, 대체로 primer나 접착레진에 혼합된 형광염료들이 수복레진에도 묻어서 의도했던대로 혼성층에서만 형광 발현을 하도록 하지 못했으나 형광 이미지에서의 채도 차이와 함께 투과 이미지(transmitted image)로 관찰시에 혼성층과 수복레진, 상아질과의 사이에 검은 선이 관찰되어 같이 합성하여 관찰시엔 구별이 용이하였다. 어떤 시편에서의 혼성층에서 형광 성분이 모두 소실되거나 너무 약한 경우가 있었으나 기존의 상아세관이 위치했던 곳의 형광은 강하여 혼성층 구별을 용이하게 하였다. 이는 산부식 후 노출된 교원질 사이에 침투한 접착레진보다 빈 공간이었던 상아세관에 침투한 레진이 많아 채도의 차이를 나타낸 것으로 사료된다. 시간의 경과에 따른 형광 염료의 파괴와 그에 따른 형광의 감소, primer와 접착레진에 혼합되는 형광 염료의 농도에 따라서 형광 정도가 달라진다는 문제점이 대두되었다. 본 실험에서는 시편을 제작한 후 형광 현미경으로 관찰할 때까지 형광 염료의 산화현상을 막기위해 저온의 냉동실에 보관하였다. 형광 염료의 산화를 막기위해 100% 습도하에 보관하는 방법도 소개되었다<sup>25</sup>. 그리고, 일정한 농도의 형광 염료가 혼합된 primer나 접착레진은 사용할 primer나 접착레진 용기에 미리 혼합해두면 사용할 때마다의 번거로움과 농도의 차이를 극복할 수 있을 것으로 사료된다.

형광 염료를 사용할 때, 염료의 주위로 스며드는(leaching) 효과가 있어 현미경 관찰시 이 점을 유의해야 할 것이다. 그럼에도 불구하고 CLSM은 접착 양상에 대한 정보를 많이 제공할 수 있으며 특히 primer와 접착레진의 분포를 분리하여 관찰하는 것을 가능케 하였다. 또, CLSM은 SEM이나 TEM에 비해 색의 대조가 뛰어나기 때문에 관찰시 편리하다는 장점을 지니고 있다. 앞으로도 치아의 연조직, 경조직의 연구뿐만 아니라 상아질 접착제 성분 변화에 따른 상아질-레진 계면의 변화같은 형태학적 연구에 CLSM은 SEM, TEM과 더불어 유용하게 사용될 수 있을 것이며 더 많은 연구가 필요하다고 사료된다.

상아질 전처리 과정이 서로 다른 3가지 종류의 상아질 접착제(Scotchbond Multi-purpose Plus, Single Bond, Clearfil Liner Bond 2)의 primer 그리고/혹은 접착레진에 형광 염료(sodium fluorescein, rhodamine B)를 혼합하여 발거된 사람의 상, 하악 대구치의 협설면에 적용하고 복합레진으로 수복, 광중합하였다. 치아 장축과 평행하게 시편을 제작한 후, 공초점 레이저 주사현미경(Confocal Laser Scanning Microscope, CLSM)을 이용하여 상아질과 상아질 접착제간의 결합 계면 형태를 관찰하고 혼성층의 후경을 측정, 비교하였다. 다른 치아에서 치아 장축과 수직인 상아질 시편을 제작한 후, 형광 염료가 혼합된 primer를 시편에 도포후 CLSM으로 상아세관의 주행방향에서 관찰하였다. 그리고, 각 상아질 접착제를 도포한 군의 전단결합강도를 측정하여 혼성층의 후경, resin tag의 길이와의 관계를 관찰한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 혼성층의 후경은 SMPP의 경우 평균 4.56 $\mu\text{m}$ 으로 실험 군중 가장 두꺼웠고, SB의 경우는 평균 3.41 $\mu\text{m}$ , LB2의 경우는 평균 1.56 $\mu\text{m}$ 으로 관찰되었다. SMPP와 SB간에는 통계적으로 유의한 차이가 없었으나(p>0.05) LB2와 다른 두 군간에는 통계적으로 유의한 차이가 있었다(p<0.05).
2. Resin tag의 길이는 동일 군내에서 또는 동일 시편내에서도 차이가 있었지만 대다수의 SMPP와 SB군의 시편에서 20 $\mu\text{m}$ 이상의 수치를 보인 반면 LB2군에서는 모두 10 $\mu\text{m}$ 이하의 수치를 보였다.
3. Primer는 탈회된 관주 상아질 및 상아세관으로의 침투 이외에도 상아세관에서 측방으로 분지하는 부위까지 스며들었다.
4. SMPP가 가장 높은 전단결합강도(18.3MPa)를 보였고 SB가 그 다음이었으며 (16.0MPa), LB2가 가장 낮은 결합강도(12.4MPa)를 보였다. 전단결합강도는 세 군간에 통계적으로 유의한 차이가 있었다(p<0.05).
5. 가장 얇은 혼성층(1.56 $\mu\text{m}$ )을 보인 LB2가 가장 낮은 전단결합강도(12.4MPa)를 보였다.

## 참고 문헌

1. Swift EJ, Perdigao J, Heymann HO. Bonding to enamel and dentin: A brief history and state of the art. Quintessence International 26: 95-110, 1995.
2. Kiyazaki M. Dentin bonding system. Part I: Literature review. Bio-Medical Materials and Engineering 6: 15-31, 1996.
3. Cox CF. Evaluation and treatment of bacterial microleakage. Am J Dent 7: 293-295, 1994.
4. Kanca J. Dentin bonding to wet substrate. I. Bonding to dentin. Quint Int 23: 39-41, 1992.



5. Nakabayashi N. The promotion of adhesion by the infiltration of monomers into tooth substrates. *J Biomed Mat Res* 16: 265-273, 1982.
6. Erickson RL. Surface interactions of Dentin Adhesive Materials. *Oper Dent* 5: 81-94, 1992.
7. Gwinnett AJ. Quantitative contribution of resin infiltration/hybridization to dentin bonding. *Am J Dent* 6: 7-9, 1993.
8. Ferrari M, Goracci G, Garcia-Godoy F. Bonding mechanism of three "one-bottle" systems to conditioned and unconditioned enamel and dentin. *Am J Dent* 10: 224-230, 1997.
9. Nakabayashi N, Saimi Y. Bonding to Intact Dentin. *J Dent Res* 75: 1706-1715, 1996.
10. Pashley DH. The effects of acid etching on the pulpodentin complex. *Oper Dent* 17: 229-242, 1992.
11. Van Meerbeek B, Inokishi S, Braem M, Lambrechts P, Vanherle G. Morphological aspects of the resin-dentin interdiffusion zone with different dentin adhesive systems. *J Dent Res* 71: 1530-1540, 1992.
12. Ferrari M, Cagidiaco MC, Kugei G, Davison CL. Dentin infiltration by three adhesive systems in clinical and laboratory conditions. *Am J Dent* 9: 240-244, 1996.
13. Ferrari M, Davidson CL. In vivo resin-dentin interdiffusion and tag formation with lateral branches of two adhesive systems. *J Prosthet Dent* 76: 250-253, 1996.
14. Mj r IA, Nordahl I. The density and braching of dentinal tubules in hyman teeth. *Arch Oral Biol* 38: 541-546, 1996.
15. Van Meerbeek B, Willems G, Celis JP, Roos JR, Braem M, Lambrechts P, Vanherle G. Assessment by nano-indentation of the hardness and elasticity of the resin-dentin bonding area. *J Dent Res* 72: 1434-1442, 1993.
16. Spencer P, Byerley TJ, Eick JD, Witt JD. Chemical characterization of the dentin/adhesive interface by Fourier transform infrared photoacoustic spectroscopy. *Dent Mater* 8: 10-15, 1992.
17. Pashley DH, Sano H, Ciucchi B, Yoshiyama M, Carvalho RM. Adhesion testing of dentin bonding agents: a review. *Dent Mater* 11: 117-125, 1995.
18. Pashley DH, Ciucchi B, Sano H, Carvalho RM, Russell CM. Bond strength versus dentin structure: A modelling approach. *Archs Oral Biol* 40: 1109-1118, 1995.
19. Opdam NJM, Roeters FJM, Verdonschot EH. Adaption and radiographic evaluation of four adhesive systems. *J Dent* 25: 391-397, 1997.
20. Eick JD, Miller RG, Robinson SJ, Bowles CQ, Gutshall PI, Chappelow CC. Quantitative analysis of the dentin adhesive interface by Auger spectroscopy. *J Dent Res* 75: 1027-1033, 1996.
21. Van Meerbeek B, Mohrbacher G, Celis JP, Poos JR, Braem M, Lambrechts P. Chemical chacterization of the resin-dentin interface by micro-raman spectroscopy. *J Dent Res* 72: 1423-1428, 1993.
22. Gwinnett AJ, Tay FR, Pang KM, Wei SHY. Quantitative contribution of the collagen network in dentin hybridization. *Am J Dent* 9: 140-144, 1996.
23. Watson TF. Application of confocal scanning optical microscopy to dentistry. *Brit Dent J* 287-291, 1991.
24. Pioch T, Stotz S, Staehle HJ, Duschner H. Applications of Confocal Laser Scanning Microscopy to dental bonding. *Adv Dent Res* 11: 453-461, 1997.
25. Schu bach P, Krejci I, Lutz F. Dentin bonding: effect of tubule orientation on hybrid layer formation. *Eur J Oral Sci* 105: 344-352, 1997.
26. Watson TF, Boyde A. The use of fluorescent markers for studying the distribution of a dentin bonding agent between a composite restoration and tooth. *Clin Mater* 2: 45-53, 1987.
27. Gwinnett AJ, Kanca JA. Micromorphology of the bonded dentin interface and its relationship to bond strength. *Am J Dent* 5: 73-77, 1992.
28. 김명수, 윤영석, 이광원, 손호현. 인산용액의 농도 및 적용시간 차이에 따른 상아질 표면의 형태적 변화. 대한 치과보존학회지 23: 141-155, 1998.
29. Yoshiyama M, Sano H, Ebisu S, Tagami J, Ciucchi B, Carvalho RM, Johnson MH, Pashley DH. Regional strengths of bonding agents to cervical sclerotic root dentin. *J Dent Res* 75: 1404-1413, 1996.
30. Uno S, Finger WJ. Function of the hybrid zone as stress-absorbing layer in resin-dentin bonding. *Quint Int* 26: 733-738, 1995.
31. Finger WJ, Inoue M, Asmussen E. Effect of wettability of adhesive resins on bonding to dentin. *Am J Dent* 7: 35-38, 1994.
32. Swift EJ, Bayne SC. Shear bond strength of a new one-bottle dentin adhesive. *Am J Dent* 10: 184-188, 1997.
33. Sano H, Shono T, Sonoda H, Takatsu T, ciucchi B, Carvalho R, Pashley DH. Relationship between surface area for adhesion and tensile bond strength. Evaluation of a microtensile bond test. *Dent Mater* 10: 236-240, 1994.
34. 김병현, 권혁준. 수중 상아질 접착제의 결합강도와 중합률에 관한 연구. 대한치과보존학회지 23: 68-93, 1998.
35. Watanabe I, Nakabayashi N, Pashley DH. Bonding to ground dentin by a phenyl-P self-etching primer. *J Dent Res* 73: 1212-1220, 1994.
36. Barkmeier WW, Los SA, Triolo, Jr PT. Bond strengths and SEM evaluation of Clearfil Liner Bond 2. *Am J Dent* 8: 289-293, 1995.
37. Chappell RP, Cobb CM, Spencer P, Eick JD. Dentinal tubule anastomosis: A potential factor in adhesive bonding? *J Prosthet Dent* 72: 183-188, 1994.
38. Tagami J, Tao L, Pashley DH. Correlation among dentin depth, permeability, and bond strength of adhesive resin. *Dent Mater* 6: 45-50, 1990.
39. Eick JD, Gwinnett AJ, Pashley DH, Robinson SJ. Current concepts on adhesion to dentin. *Crit Rev Oral Biol Med* 8: 306-335, 1997.
40. Tam LE, Pilliar RM. Fracture toughness of dentinal composite adhesive surfaces. *J Dent Res* 72: 953-959, 1993.
41. Prati C, Ferrieri P, Galloni C, Mongiorgi R, Davidson CL. Dentin permeability and bond quality as affected by new bonding systems. *J Dent* 23: 217-226, 1995.
42. Banerjee A, Boyde A. Autofluorescence and Mineral Content of Carous Dentine: Scanning Optical and Backscattered Electron Microscopic Studies. *Caries Res* 32: 219-226, 1998.
43. Duschner H, G ötz H, O/gaard B. Fluoride-induced precipitates on enamel surface and subsurface areas visualized by electron microscopy and confocal laser scanning microscopy. *Eur J Oral Sci* 105: 466-472, 1997.
44. Kabasawa M, Ejiri S, Hanada K, Ozawa H. Histologic Observations of Dental Tissues Using the Confocal Lser Scanning Microscope. *Biotech & Histoche* 70: 66-69, 1995.
45. Maseki T, Suda S, Okuyama C, Nara Y, Tanaka H, Dogon IL. Observation of the resin-dentin interface using CLSM. *IADR Nice* #1435, 1998.

## Explanation of figures

"C" and "D" in all of the figures denote composite resin, dentin respectively.

Fig. 2a. Transmitted image of interface between Scotchbond Multipurpose Plus(SMPP) and dentin.

Fig. 2b. Fluorescent image of interface between SMPP and dentin.

The primer, mixed with fluorescein, has infiltrated the surface zone. The deep penetration of primer into the widened tubules is observed.

Fig. 2c. Fluorescent image of interface between SMPP and dentin.

The bonding resin, mixed with rhodamine B, has infiltrated the dentinal tubules, forming a hybrid layer and resin tags.

Fig. 2d. Overlay image of 2a, 2b, 2c.

Long resin tags(T) and a well defined hybrid layer(H) are visible.

The thickness of the hybrid layer can be measured where the boundary of the hybrid layer is parallel to the dentin-composite junction.

Fig. 3a. Transmitted image of the interface between Single Bond(SB) and dentin.

Fig. 3b. Fluorescent image of the interface between SB and dentin.

The deep infiltration through the dentinal tubules of the bonding resin, mixed with rhodamine B, is visible. Well-defined hybrid layer is also visible(white arrows)

Fig. 3c. Overlay image of 3a, 3b.

Hybrid layer and resin tags(white arrow) as visualized in Fig. 2d are observed clearly.

Fig. 4a. Transmitted image of interface between Clearfil Liner Bond 2(LB2) and dentin.

Fig. 4b. Fluorescent image of interface between LB2 and dentin.

It is hard to distinguish from hybrid layer and composite, dentin due to extremely thin thickness of hybrid layer(☆).

Fig. 4c. Overlay image of 4a, 4b.

Very short( $<10\mu\text{m}$ ) resin tags are observed.

Fig. 5 CLSM image from optical sections recorded in a plane parallel to the dentinal surface at a depth below the surface of  $2\mu\text{m}$ (Fig. 5a),  $4\mu\text{m}$ (Fig. 5b) and  $6\mu\text{m}$ (Fig. 5c), respectively. Note the decreased diameter of dentinal tubules and resin tags(T). The peritubular dentin(P) is visible clearly in Fig. 5c.

Fig. 6 CLSM view of a projection of 16 optical sections with  $0.5\mu\text{m}$  interval demonstrating resin tags and side branches(S). This view shows the typical features of funnel shaped resin tags.

사진부도 ①

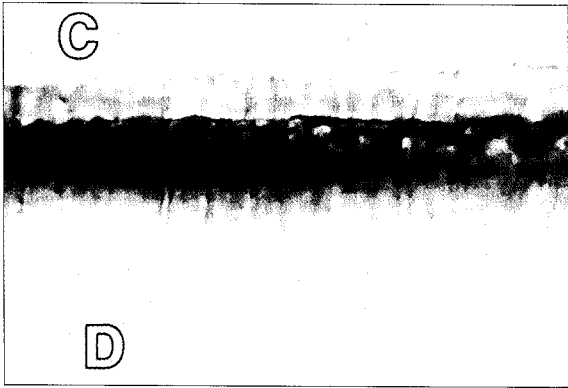


Fig. 2a

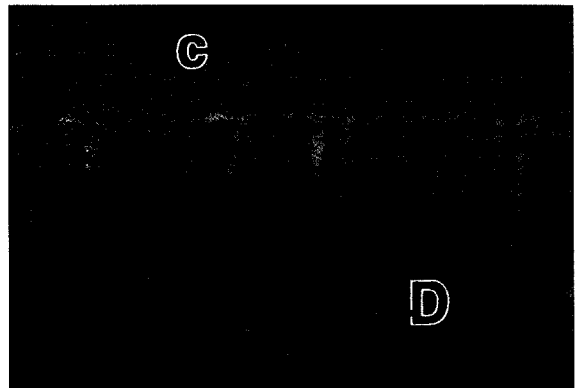


Fig. 2b

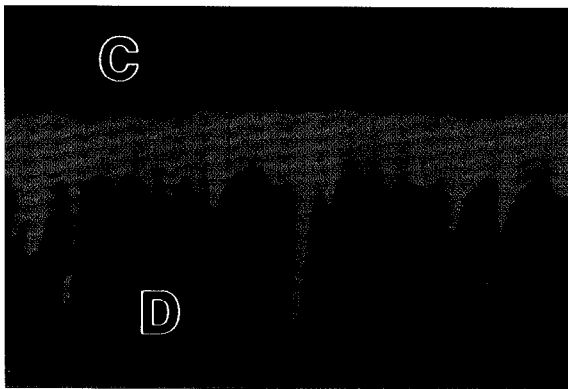


Fig. 2c

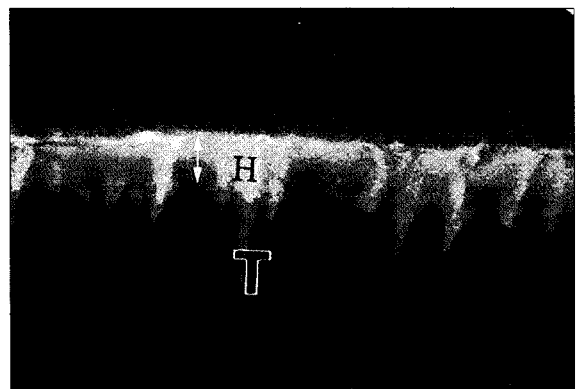


Fig. 2d

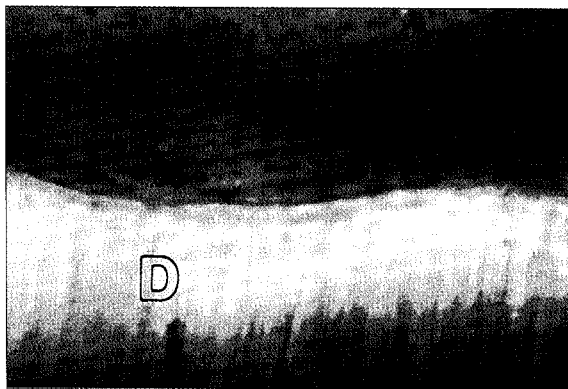


Fig. 3a

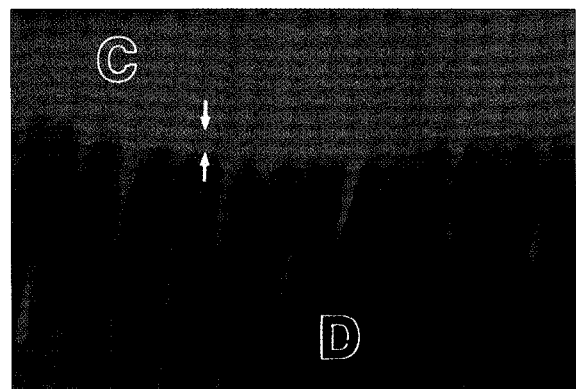


Fig. 3b

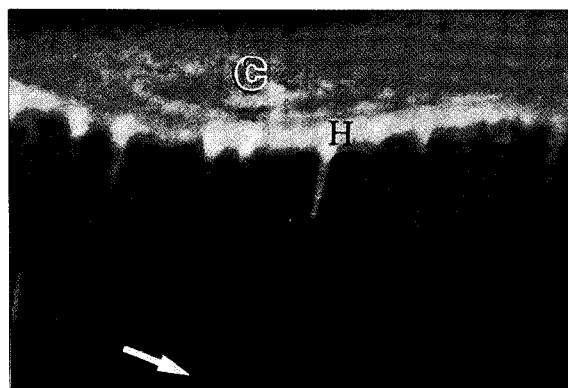


Fig. 3c

사진부도②



Fig. 4a

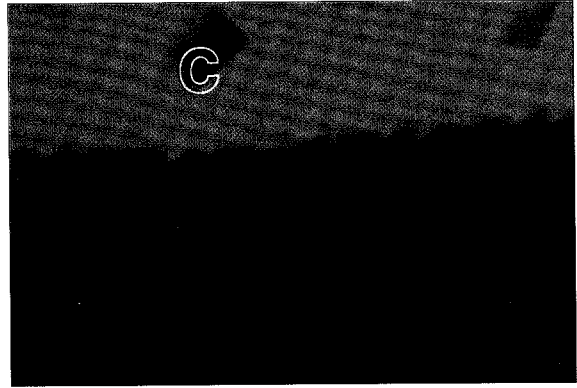


Fig. 4b



Fig. 4c

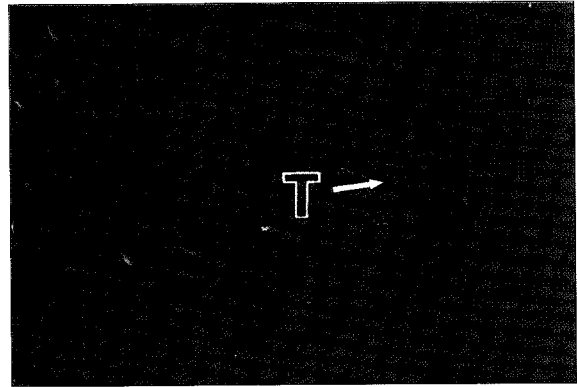


Fig. 5a

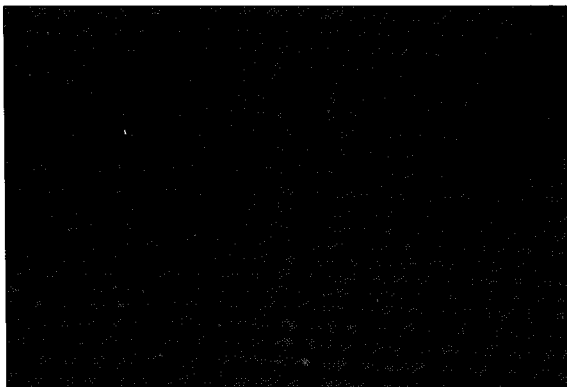


Fig. 5b

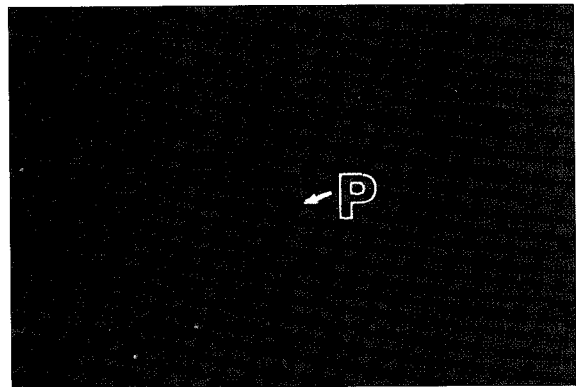


Fig. 5c



Fig. 6