

## 상아질 접착에서 collagenase와 esterase가 미세인장결합강도에 미치는 영향

정영정 · 현홍근 · 김영재 · 김정욱 · 이상훈 · 김종철 · 한세현 · 장기택

서울대학교 치과대학 소아치과학교실 및 치학연구소

### 국문초록

상아질-레진 접착강도에 대한 collagenase와 esterase의 영향을 살펴보기 위해, 소구치의 교합면 상아질에 Single Bond 2와 Clearfil SE Bond로 접착을 시행하고 미세 시편을 제작하여 PBS, collagenase 용액, esterase 용액에 4주간 보관한 후 미세인장결합강도를 측정, 비교하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 모든 보관 용액에서 Single Bond 2의 미세인장결합강도는 Clearfil SE Bond보다 유의하게 낮았다( $p < 0.05$ ).
2. Single Bond 2의 미세인장결합강도는 collagenase군이 PBS군, esterase군보다 낮았다( $p > 0.05$ ).
3. Clearfil SE Bond의 미세인장결합강도는 esterase군이 PBS군에 비해 낮았으나( $p > 0.05$ ), collagenase군보다는 높았다( $p > 0.05$ ). Collagenase군은 PBS군에 비해 유의하게 낮은 미세인장결합강도를 보였다( $p < 0.05$ ).

**주요어** : 상아질 접착, Collagenase, Esterase, 미세인장결합강도

### 1. 서 론

상아질 접착의 내구성(durability)은 복합레진 수복물의 수명에 영향을 주는 중요한 요인 중 하나이며, 구강 내에서 상아질 접착 계면은 여러 요인에 의해 약화될 수 있다. 최근의 *in vivo* 연구들은 시간이 경과함에 따라 상아질 접착강도가 감소하고, 접착 계면 내의 기포가 증가함을 보고하였다<sup>1-4)</sup>. 이러한 변화가 나타나는 기전은 명확하지 않으나, 구강 내에서의 온도 변화나 저작압에 의한 피로로 상아질 접착 실패가 나타날 수 있으며<sup>5-7)</sup>, 구강 내 세균산물이나 타액 성분에 의한 분해도 상아질 접착 계면의 약화에 기여할 것으로 생각된다<sup>8)</sup>.

상아질 접착 계면의 분해에 관여하는 타액 성분에 대해서는 거의 알려져 있지 않으며, 혼성층을 구성하는 레진과 교원섬유

를 분해하는 효소들이 이에 관여할 것으로 생각된다<sup>9)</sup>. 또한 타액의 대부분을 차지하는 수분은 레진을 가수분해시켜 상아질 접착 계면을 약화시킬 수 있다<sup>10)</sup>. 특히 현재 사용되고 있는 상아질 접착제는 total-etch 접착제와 자가부식 접착제 모두 친수성 레진 단량체를 많은 양 포함하고 있는데, 이는 습윤 상아질 기질에 접착하거나, 범랑질과 상아질을 부식시키면서 동시에 접착하기 위해 이러한 단량체들이 필요하기 때문이다. 그러나 친수성 레진의 증가로 레진 기질은 투과성이 증가하면서 불안정해져 시간이 경과함에 따라 수분 흡수, 레진 용출, 가수분해와 같은 현상이 나타나게 된다<sup>10)</sup>.

구강 내에서 레진은 화학적으로 분해될 수 있으며<sup>11)</sup>, 타액 내에 esterase 활성이 존재하여 Bis-GMA와 TEGDMA 같은 레진 성분이 가수분해된다는 것은 여러 연구에서 보고되었다<sup>12-14)</sup>. 효소에 의한 레진 분해는 레진의 약화<sup>15)</sup>나 변색<sup>16,17)</sup>을 유발하며, 접착 레진의 분해로 인한 접착 실패도 일어날 수 있으나, 이에 대한 연구는 거의 보고되지 않았다.

혼성층에 존재하는 교원 섬유는 상아질 접착 계면에서 분해에 취약한 또 다른 부분이다<sup>18)</sup>. 상아질 접착 시편을 NaOCl에 수시간 담가두면, 혼성층(hybrid layer) 내부의 교원섬유가 용

교신저자 : 장 기 택

서울시 종로구 연건동 275-1

서울대학교 치과대학 소아치과학교실

Tel: 02-2072-2682

E-mail: jangkt@snu.ac.kr

※ 본 연구는 서울대학교치과병원 일반연구비 지원에 의해 이루어진 것임(04-2006-0011).

해되어 제거되면서 접착강도가 유의하게 감소하는 현상이 관찰된다<sup>19)</sup>. 이는 상아질 접착 과정에서 탈회된 상아질 내로 접착제가 완전히 침투하지 못하여 교원섬유가 노출된 상태로 남아 있게 되기 때문이며<sup>20)</sup>, 이렇게 노출된 교원섬유는 구강 내에 존재하는 세균 효소나 타액 내 효소, 상아질에서 분비되는 효소에 의해 분해되어 상아질 접착을 약화시킬 수 있다<sup>21)</sup>.

이에 본 연구는 상아질-레진 접착강도에 대한 collagenase와 esterase의 영향을 살펴보기 위해, 상아질 접착 시편을 이들 효소 용액에 4주간 보관한 후 미세인장결합강도를 측정하여 비교하였다.

## II. 연구재료 및 방법

### 1. 연구재료

최근에 교정 치료를 위해 발거된 우식이 없고 건전한 소구치를 선정하여 미세인장결합강도 실험에 사용하였다. 상아질 접착제로 total-etch 접착제인 Adper™ Single Bond 2(3M ESPE, USA)와 자가부식 접착제인 Clearfil SE bond (Kuraray, Japan)를 사용하였고(Table 1), 복합레진은 Filtek Supreme Universal A2 shade(3M ESPE, USA)를 사용하였다. 산부식제는 35% 인산(Scotchbond™ Etchant, 3M ESPE, USA)을 사용하였고, 광중합기는 Curing light 2500(3M Dental Products, USA)을 사용하였다. 상아질 접착 시편의 보관액으로는 PBS, esterase 용액, collagenase 용액을 사용하였는데, PBS는 phosphate buffer 분말(PBS, Sigma, USA)을 증류수에 용해시켜 제작하였으며 0.0027M 염화칼슘, 0.137M 염화나트륨을 포함한다(25℃, pH7.4). Esterase 용액은 porcine liver esterase(Sigma, USA) 분말을 PBS에 4 U/ml의 농도(타액 내 평균 hydrolase 활성<sup>22)</sup>인 40 mU/ml의 100배)로 용해시켜 제작하였고, collagenase 용액은 type I collagenase(Sigma, USA) 분말을 PBS에 0.1%의 농도로 용해시켜 제작하였으며, 사용 직전까지 -20℃에서 보관하였다.

### 2. 시편 제작

교정 치료를 위해 발거된, 우식이 없고 건전한 소구치 30개를 선정하여 치아 표면의 이물질을 제거하고, 4℃의 0.5% Chloramine-T 용액에 보관하였다. 미리 제작된 아크릴 블록에 교정용 아크릴릭 레진을 이용하여 소구치의 치관이 노출되도록 매몰하고, 레진이 충분히 경화되도록 1시간 동안 실온의 수조에 보관하였다. 실험은 Fig. 1과 같이 진행하였다.

저속 diamond saw(Isomet, Buehler, USA)를 이용하여 교합면 법랑질을 제거하고, 연마기(Struers Dap-V, Struers, Denmark)에서 노출된 상아질 표면을 주수하에 320 grit 실리콘 카바이드 페이퍼로 연마하여 smear layer로 덮인 접착면을 재현하였다. 임의로 두 군(SB군, SE군)으로 나누어 제조사의 지시대로 상아질 접착제를 적용하고 광중합하였다(Table 1). 복합레진을 최종 두께 4 mm가 되도록 3회에 나누어 적층 충전하고, 각 층은 20초간 광중합하였다. 중합이 완료된 후 치아를 24시간 실온의 수조에 보관한 후, 단면적 1 mm<sup>2</sup>, 길이 6~8 mm의 직육면체가 되도록 저속 diamond saw를 이용하여 절단하고, 24시간 동안 상온의 PBS에 보관하였다.

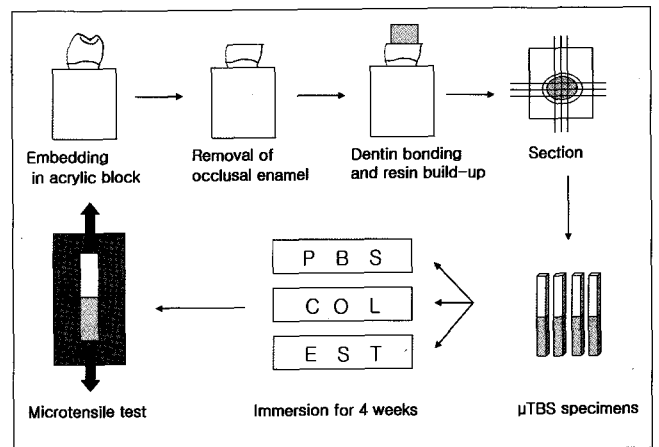


Fig. 1. Experimental design of the study. PBS: phosphate buffer solution, COL: collagenase solution, EST: esterase solution.

Table 1. Dentin adhesives used in the study

Adhesives	Manufacturer	Composition	Application
Single Bond 2 (SB)	3M ESPE, St Paul, USA	Bis-GMA, HEMA, dimethacrylates, polyalkenoic acid copolymer, initiator, ethanol/water, camphoroquinone, 10%(wt) 5nm silica	Apply 2 consecutive coats, gently air dry 5s, light cure for 10s
Clearfil SE bond (SE)	Kuraray, Okayama, Japan	Primer: MDP, HEMA, hydrophilic dimethacrylate, photoinitiator, water Bond: MDP, HEMA, hydrophilic dimethacrylate, Bis-GMA, microfiller	Apply primer for 20s, blow air gently, apply bonding agent, light cure for 10s

**Table 2.** Microtensile bond strength values(Mean ± SD) of SB group

Group	Sample number	Microtensile bond strength(MPa)
I: PBS	20	22.51 ± 13.22
II: COL	20	15.77 ± 9.80
III: EST	20	21.48 ± 12.35

\* There was no significant difference in SB group(p>0.05).  
 \* PBS: phosphate buffer solution, COL: collagenase, EST: esterase.

3. 시편 보관

두 군의 상아질 접착 시편을 각각 3그룹으로 나누어, I군은 PBS, II군은 collagenase 용액, III군은 esterase 용액에 4주간(37℃) 보관하였으며, PBS와 효소 용액은 2일마다 교환하였다. 4주간 보관 후 시편을 식염수로 세척하고, 상온의 PBS에서 24시간 보관하였다.

4. 미세인장결합강도의 측정

각 군 시편의 미세인장결합강도 측정을 위하여 시편을 cyanoacrylate glue로 홀더에 고정하고, universal testing machine(LF-PLUS, Lloyd Instrument, UK)을 이용하여 1분당 1.0 mm의 cross-head speed로 측정하였다.

5. 통계 처리

통계 처리는 SPSS 12.0K 프로그램을 사용하여, 각 보관 용액에서 상아질 접착제간의 미세인장결합강도의 차이는 t-test를 이용하여 검정하였으며, 각 상아질 접착제군에서 보관 용액에 따른 차이는 ANOVA를 이용하여 95% 유의수준에서 분석하고 사후 검정으로 Scheffe's test를 시행하였다.

Ⅲ. 연구 성적

1. SB vs SE

모든 보관 용액에서 total-etch 상아질 접착제를 사용한 SB군이 자가부식 상아질 접착제를 적용한 SE군에 비해 유의하게 낮은 미세인장결합강도를 보였다(p<0.05, Table 2, 3)

2. SB에서 보관 용액에 따른 미세인장결합강도

Total-etch 상아질 접착제를 사용한 SB군에서 collagenase 용액에 보관한 II군은 PBS와 esterase 용액에 보관한 I, III군

**Table 3.** Microtensile bond strength values(Mean ± SD) of SE group

Group	Sample number	Microtensile bond strength(MPa)
I: PBS	20	53.48 ± 10.21 <sup>a</sup>
II: COL	20	42.98 ± 10.02 <sup>b</sup>
III: EST	20	45.97 ± 12.19 <sup>ab</sup>

\* Identical letters indicate that the values are not statistically different(p>0.05).  
 \* PBS: phosphate buffer solution, COL: collagenase, EST: esterase.

보다 약간 낮은 미세인장결합강도를 보였으나 그 차이는 통계적으로 유의하지 않았다(p>0.05, Table 2).

3. SE에서 보관 용액에 따른 미세인장결합강도

자가부식 상아질 접착제를 사용한 SE군에서 esterase 용액에 보관한 III군은 PBS에 보관한 I군에 비해 낮은 미세인장결합강도를 보였으나, 두 군간의 차이는 통계적으로 유의하지 않았으며, collagenase 용액에 보관한 II군과도 유의한 차이를 보이지 않았다(p>0.05). 이에 비해, collagenase 용액에 보관한 II군은 PBS에 보관한 I군에 비해 유의하게 낮은 미세인장결합강도를 보였다(p<0.05, Table 3).

Ⅳ. 총괄 및 고찰

이 연구는 상아질-레진 접착강도에 대한 collagenase와 esterase의 영향을 살펴보기 위해 효소 용액에 보관한 후 미세인장결합강도를 측정하였는데, 가속 시효(accelerated aging) 조건을 위해 고농도의 효소 용액과 매우 작게 절단한 시편을 사용하였다. 이 연구에서 esterase의 농도는 타액 내 hydrolase 활성에 상응하는 농도<sup>22)</sup>의 100배를 사용하였고, collagenase의 농도는 구강 내의 외인성 교원섬유 분해 활성 수준이 아직 알려져 있지 않기 때문에, 상아질 접착에서 교원섬유의 기여도를 연구하는 데 사용된 collagenase의 농도<sup>23)</sup>를 참고로 하였다.

SB군에서 4주 보관 후의 미세인장결합강도는 보관용액에 상관없이 SE군보다 유의하게 낮았는데(p<0.05), 이는 두 상아질 접착제의 접착 기전의 차이로 인해 수용액에서 SB군이 가수분해에 더 취약하기 때문일 것으로 생각된다. Single Bond 2와 같은 5세대 total-etch 상아질 접착제는 산부식된 깊이의 끝까지 접착레진이 침투하지 못하여 혼성층의 하방에 교원섬유가 레진으로 둘러싸이지 못하고 노출된 상태로 남아있게 된다<sup>24,25)</sup>. 따라서, 접착레진이산부식층 하방까지 깊게 침투되면 상아질 접착강도가 개선될 수 있다<sup>26)</sup>. 또한 이 유형의 상아질 접착제는 습윤 상아질 내로 침투되도록 하기 위해 친수성 레진을 다량 포함하기 때문에 접착레진층이 많은 양의 수분 흡수와 높은 용해

도를 보이며<sup>27)</sup>, 이로 인해 레진이 용해되어 소실되면서 교원섬유가 점차 가수분해되기 쉬운 환경에 노출될 수 있다.

Clearfil SE Bond와 같은 자가부식 접착제도 자가부식 활성을 위해 전처리제는 친수성 레진 단량체를 다량 포함하고 있으나, 전처리제 적용 후에 비교적 소수성의 접착레진을 추가적으로 적용하기 때문에 수분 침투가 덜 일어나게 된다. 또한, 상아질 탈회와 레진 침투가 동시에 일어나기 때문에 total-etch 접착제의 적용에서와 같은 깊이 차이로 인한 교원섬유의 노출이 거의 나타나지 않는다<sup>25)</sup>. 또한 자가부식 전처리제는 인산에 비해 탈회가 부분적으로만 일어나서 교원섬유가 부분적으로 수산화인회석에 덮여 있게 되어 접착계면이 분해되는 것에 더 저항할 수 있을 것으로 생각된다. 이러한 이유로 De Munck 등<sup>28)</sup>은 상아질 접착에서 표준(gold standard)은 4세대 상아질 접착시스템이며, 임상에서 접착 단계를 단순화시키는 것은 어떠한 경우에도 접착효과를 감소시키나, 2-단계 자가부식 접착제는 이러한 표준에 가까운 접착력을 보인다고 하였다.

Esterase에 의한 레진의 분해도 상아질 접착 계면을 약화시키는 주요 기전으로 생각되고 있다<sup>14,15)</sup>. 구강 내에서 esterase는 대식세포나 단핵구와 같은 세포로부터 분비되는데, 이러한 세포들은 염증 치은뿐만 아니라 정상 치은에도 존재하며, 다양한 조건에서 esterase의 분비가 증가될 수 있다<sup>29)</sup>. 접착레진에 포함된 레진이 esterase에 의해 분해되기도 하지만, 반대로 Bis-GMA와 같은 레진 성분이 esterase의 활성을 증가시킬 수 있어<sup>30)</sup> 레진의 분해를 더욱 촉진시킬 수 있다.

Armstrong 등<sup>9)</sup>은 HEMA만을 포함한 전처리제를 사용한 3-단계 상아질 접착시스템으로 접착한 상아질 접착시편을 12주간 보관하였을 때, esterase 용액에서 접착강도가 유의하게 감소하였기 때문에 상아질 접착에서 효소에 의한 methacrylate의 분해가 임상적으로 문제가 될 수 있다고 하였다. 효소 용액의 농도나 시편 크기, 시편 보관 기간과 같은 실험 조건이 다르기 때문에 직접적인 결과 비교는 어렵지만, 이러한 결과는 본 연구와는 상반되는 결과이다. 본 연구에 사용한 상아질 접착제들은 친수성의 HEMA만을 포함한 전처리제보다 esterase에 덜 취약하기 때문에, SB군과 SE군 모두에서 esterase 용액에 4주간 보관하였을 때의 접착강도가 PBS군과 차이를 보이지 않은 것으로 생각되나, 보다 장기간에 걸친 연구가 필요할 것으로 보인다.

이전의 연구에서 Single Bond로 접착된 수복물이 구강 내에서 6개월 경과하였을 때 심한 교원섬유의 상실이 혼성층에서 관찰되었는데<sup>31)</sup>, 교원섬유의 분해는 치태 내 세균이나 타액선, 백혈구에서 유래하는 단백질 분해효소에 의해 나타날 수 있다<sup>32)</sup>. 상아질 접착 시편을 collagenase 용액에 보관하는 경우에, 혼성층 내에 더 많은 교원섬유가 노출된 상태로 존재하는 SB군에서의 접착강도 감소가 SE군에서보다 클 것으로 예상되었으나, 실제로는 SE군에서의 미세인장결합강도 감소가 더 크고 유의하게 나타났다. SE군에서의 이러한 감소는 혼성층 내의 친수성 레진이 용해되고 유리되어 교원섬유가 노출될 뿐만 아니라, 자

가부식 접착제로 상아질 접착을 시행하는 경우에도 레진이 침투되지 못하는 층이 나타나기 때문으로 생각되며, 이러한 층은 자가부식 접착제가 중합된 이후에도 상아질의 탈회가 일어나면서 나타난다<sup>33)</sup>.

혼성층 내의 교원섬유는 상아질 내에 존재하는 matrix metalloproteinase(MMP)에 의해서도 분해될 수 있다<sup>21)</sup>. MMP는 치아 발육 중에 광화되는 상아질 기질에 남게 되는 아연-, 칼슘-의존 endopeptidase이며, 상아질 접착 계면에서 이러한 내인성 효소가 활성화되면 혼성층의 교원섬유가 분해되므로, 혼성층을 약화시키는 요인이 될 수 있다<sup>34)</sup>. MMP는 기계적 자극에 의해 활성화될 수 있으며<sup>35,36)</sup>, 레진 단량체나 3차 아민과 같은 상아질 접착제 성분에 의해서도 활성화될 수 있다<sup>37)</sup>. 또한 수산화인회석 결정이 MMP를 비활성화시키고 자가촉매에 의한 효소 분해를 유도함으로써 상아질 기질의 분해를 억제하기 때문에<sup>38)</sup>, 산부식에 의한 상아질의 탈회는 수산화인회석에 의한 이러한 억제 기전을 완화시키는 방향으로 작용하여 상아질 내 교원섬유 분해를 촉진할 수 있다.

MMP는 산에 의해 활성화되기도 하며<sup>39)</sup>, Tjaderhane 등<sup>40)</sup>은 타액 gelatinase를 활성화시키는 데 pH 2.3~5의 범위가 효과적이라고 하였다. 최근에 사용되는 5세대 상아질 접착제의 대부분은 이 범위의 pH를 가지며, Mazzoni 등의 연구<sup>41)</sup>에서 몇몇 total-etch 접착제는 산부식을 시행하지 않은 경우보다 단백질 분해 활성을 더 증가시켰고, pH가 낮을수록 효소 활성이 증가하였다. 또 다른 연구는 자가부식 상아질 접착제도 상아질에서 교원섬유 분해 활성을 증가시키며, 자가부식 상아질 접착제의 pH 범위에서 pH가 높을수록 효소 활성이 증가하고, total-etch 접착제에 비해 효소 활성이 더 많이 증가하는 결과를 보여주었다<sup>42)</sup>. 이러한 혼성층 내의 교원섬유 분해 활성의 증가가 이번 연구에서 관찰된 접착강도의 감소에도 기여하였을 것으로 생각된다.

본 연구 결과가, 비록 고농도의 효소 용액 사용으로 구강 내 수복물에서의 변화에 비해 과장된 결과이기는 하지만, 상아질 접착 시편을 collagenase 용액에 보관한 경우에 esterase 용액에 보관한 경우보다 미세인장결합강도의 감소가 더 컸으므로, 상아질 접착 계면에서 교원섬유의 분해가 레진 분해보다 임상적으로 더 중요하다고 해석할 수 있다. 따라서, 혼성층 내에 노출되는 교원섬유를 최소화하기 위해 상아질 접착제를 사용할 때 주의 깊은 적용이 필요하며, 접착제의 침투를 돕기 위한 여러 방법들이 모색되어야 할 것으로 생각된다.

## V. 결 론

본 연구는 상아질-레진 접착강도에 대한 collagenase와 esterase의 영향을 살펴보기 위해, 소구치의 교합면 상아질에 Single Bond 2와 Clearfil SE Bond로 접착을 시행하고 미세시편을 제작한 후 PBS, collagenase 용액, esterase 용액에 4주간 보관한 후 미세인장결합강도를 측정, 비교하여 다음과 같

은 결론을 얻었다.

1. 모든 보관 용액에서 Single Bond 2의 미세인장결합강도는 Clearfil SE Bond보다 유의하게 낮았다( $p < 0.05$ ).
  2. Single Bond 2의 미세인장결합강도는 collagenase 용액에 보관한 군이 PBS나 esterase 용액에 보관한 군보다 낮았다( $p < 0.05$ ).
  3. Clearfil SE Bond의 미세인장결합강도는 esterase 용액에 보관한 군이 PBS에 보관한 군보다 낮았으나( $p > 0.05$ ), collagenase 용액에 보관한 군보다는 높았다( $p > 0.05$ ). Collagenase 용액에 보관한 군은 PBS에 보관한 군에 비해 유의하게 낮은 미세인장결합강도를 보였다( $p < 0.05$ ).
- 이상의 결과에서 상아질 접착 계면에서 collagenase에 의한 접착력의 감소 가능성이 있으므로, 혼성층에서 교원섬유의 노출을 최소화하기 위한 접착제와 접착기법의 개선이 필요할 것으로 생각된다.

### 참고문헌

1. Sano H, Yoshikawa T, Pereira PN, et al. : Long-term durability of dentin bonds made with a self-etching primer, in vivo. *J Dent Res*, 78:906-911, 1999.
2. Hashimoto M, Ohno H, Kaga M, et al. : In vivo degradation of resin-dentin bonds in humans over 1 to 3 years. *J Dent Res*, 79:1385-1391, 2000.
3. Takahashi A, Inoue S, Kawamoto C, et al. : In vivo long-term durability of the bond to dentin using two adhesive systems. *J Adhes Dent*, 4:151-159, 2002.
4. Koshiro K, Inoue S, Tanaka T, et al. : In vivo degradation of resin-dentin bonds produced by a self-etch vs. a total-etch adhesive system. *Eur J Oral Sci*, 112:368-375, 2004.
5. Huang MS, Li MT, Huang FM, et al. : The effect of thermocycling and dentine pre-treatment on the durability of the bond between composite resin and dentine. *J Oral Rehabil*, 31:492-499, 2004.
6. Bedran-de-Castro AK, Pereira PN, Pimenta LA, et al. : Effect of thermal and mechanical load cycling on nanoleakage of Class II restorations. *J Adhes Dent*, 6:221-226, 2004.
7. Nikaido T, Kunzelmann KH, Chen H, et al. : Evaluation of thermal cycling and mechanical loading on bond strength of a self-etching primer system to dentin. *Dent Mater*, 18:269-275, 2002.
8. Kiyomura M : Bonding strength to bovine dentin with 4-META/MMA-TBB resin: long-term stability and influence of water. *J Jpn Soc Dent Mater Dev*, 6:860-872, 1987.
9. Armstrong SR, Jessop JL, Vargas MA, et al. : Effects of exogenous collagenase and cholesterol esterase on the durability of the resin-dentin bond. *J Adhes Dent*, 8:151-160, 2006.
10. Yiu CK, Pashley EL, Hiraishi N, et al. : Solvent and water retention in dental adhesive blends after evaporation. *Biomaterials*, 26:6863-6872, 2005.
11. 양규호, 김훈주, 최남기 : 광중합 복합레진의 화학적 분해 평가. *대한소아치과학회지*, 30:530-539, 2003.
12. Finer Y, Santerre JP : Biodegradation of a dental composite by esterases: dependence on enzyme concentration and specificity. *J Biomater Sci Polym Ed*, 14:837-849, 2003.
13. Finer Y, Santerre JP : Salivary esterase activity and its association with the biodegradation of dental composites. *J Dent Res*, 83:22-26, 2004.
14. Lin BA, Jaffer F, Duff MD, et al. : Identifying enzyme activities within human saliva which are relevant to dental resin composite biodegradation. *Biomaterials*, 26:4259-4264, 2005.
15. Geurtsen W, Leyhausen G, Garcia-Godoy F : Effect of storage media on the fluoride release and surface microhardness of four polyacid-modified composite resins ("compomers"). *Dent Mater*, 15:196-201, 1999.
16. Lee YK, Lim BS, Powers JM : Color changes of dental resin composites by a salivary enzyme. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*, 70:66-72, 2004.
17. Lee YK, Powers JM : Discoloration of dental resin composites after immersion in a series of organic and chemical solutions. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*, 73:361-367, 2005.
18. Spencer P, Swafford JR : Unprotected protein at the dentin-adhesive interface. *Quintessence Int*, 30:501-507, 1999.
19. Yoshida E, Hashimoto M, Hori M, et al. : Deproteinizing effects on resin-tooth bond structures. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*, 68:29-35, 2004.
20. Spencer P, Wang Y, Walker MP, et al. : Interfacial chemistry of the dentin/adhesive bond. *J Dent Res*, 79:1458-1463, 2000.
21. Pashley DH, Tay FR, Yiu C, et al. : Collagen degradation by host-derived enzymes during aging. *J Dent Res*, 83:216-221, 2004.
22. Munksgaard EC, Freund M : Enzymatic hydrolysis

- of (di)methacrylates and their polymers. *Scand J Dent Res*, 98:261-267, 1990.
23. Gwinnett AJ, Tay FR, Pang KM, et al. : Quantitative contribution of the collagen network in dentin hybridization. *Am J Dent*, 9:140-144, 1996.
  24. Agee KL, Pashley EL, Itthagarun A, et al. : Submicron hiati in acid-etched dentin are artifacts of desiccation. *Dent Mater*, 19:60-68, 2003.
  25. Suppa P, Breschi L, Ruggeri A, et al. : Nanoleakage within the hybrid layer: a correlative FEISEM/TEM investigation. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*, 73:7-14, 2005.
  26. 이진, 김정옥, 이상훈 등 : 진동이 상아질 결합력에 미치는 영향에 관한 연구. *대한소아치과학회지*, 29:632-640, 2002.
  27. Ito S, Hashimoto M, Wadgaonkar B, et al. : Effects of resin hydrophilicity on water sorption and changes in modulus of elasticity. *Biomaterials*, 26:6449-6459, 2005.
  28. De Munck J, Van Landuyt K, Peumans M, et al. : A critical review of the durability of adhesion to tooth tissue: methods and results. *J Dent Res*, 84:118-132, 2005.
  29. Lindhorst E, Young D, Bagshaw W, et al. : Acute inflammation, acute phase serum amyloid A and cholesterol metabolism in the mouse. *Biochim Biophys Acta*, 1339:143-154, 1997.
  30. Smith RE, Burmaster S, Glaros AG, et al. : Aromatic dental monomers affect the activity of cholesterol esterase. *Biochim Biophys Acta*, 1550:100-106, 2001.
  31. Hebling J, Pashley DH, Tjaderhane L, et al. : Chlorhexidine arrests subclinical degradation of dentin hybrid layers in vivo. *J Dent Res*, 84:741-746, 2005.
  32. Uitto VJ, Suomalainen K, Sorsa T : Salivary collagenase. Origin, characteristics and relationship to periodontal health. *J Periodontal Res*, 25:135-142, 1990.
  33. Carvalho RM, Chersoni S, Frankenberger R, et al. : A challenge to the conventional wisdom that simultaneous etching and resin infiltration always occurs in self-etch adhesives. *Biomaterials*, 26:1035-1042, 2005.
  34. Armstrong SR, Vargas MA, Chung I, et al. : Resin-dentin interfacial ultrastructure and microtensile dentin bond strength after five-year water storage. *Oper Dent*, 29:705-712, 2004.
  35. Collins JM, Ramamoorthy K, Da Silveira A, et al. : Expression of matrix metalloproteinase genes in the rat intramembranous bone during postnatal growth and upon mechanical stresses. *J Biomech*, 38:485-492, 2005.
  36. Zhou D, Lee HS, Villarreal F, et al. : Differential MMP-2 activity of ligament cells under mechanical stretch injury: an in vitro study on human ACL and MCL fibroblasts. *J Orthop Res*, 23:949-957, 2005.
  37. Nakashima Y, Sun DH, Maloney WJ, et al. : Induction of matrix metalloproteinase expression in human macrophages by orthopaedic particulate debris in vitro. *J Bone Joint Surg Br*, 80:694-700, 1998.
  38. Martin-De Las Heras S, Valenzuela A, Overall CM : The matrix metalloproteinase gelatinase A in human dentine. *Arch Oral Biol*, 45:757-765, 2000.
  39. Davis GE : Identification of an abundant latent 94-kDa gelatin-degrading metalloprotease in human saliva which is activated by acid exposure: implications for a role in digestion of collagenous proteins. *Arch Biochem Biophys*, 286:551-554, 1991.
  40. Tjaderhane L, Larjava H, Sorsa T, et al. : The activation and function of host matrix metalloproteinases in dentin matrix breakdown in caries lesions. *J Dent Res*, 77:1622-1629, 1998.
  41. Mazzoni A, Pashley DH, Nishitani Y, et al. : Reactivation of inactivated endogenous proteolytic activities in phosphoric acid-etched dentine by etch-and-rinse adhesives. *Biomaterials*, 27:4470-4476, 2006.
  42. Nishitani Y, Yoshiyama M, Wadgaonkar B, et al. : Activation of gelatinolytic/collagenolytic activity in dentin by self-etching adhesives. *Eur J Oral Sci*, 114:160-166, 2006.

Abstract

THE EFFECTS OF COLLAGENASE AND ESTERASE ON THE MICROTENSILE  
BOND STRENGTH IN DENTIN BONDING

Young-Jung Jung, Hong-Keun Hyun, Young-Jae Kim, Jung-Wook Kim, Sang-Hoon Lee,  
Chong-Chul Kim, Se-Hyun Hahn, Ki-Taeg Jang

*Department of Pediatric Dentistry, College of Dentistry and Dental Research Institute,  
Seoul National University*

The purpose of this study was to evaluate the effect of collagenase and esterase on the microtensile bond strength( $\mu$ TBS) in dentin bonding. After resin composites were bonded to occlusal dentin,  $\mu$ TBS specimens were formed and stored in PBS, collagenase, or esterase solution. After 4-week storage,  $\mu$ TBS was determined and, the results were as follows:

1.  $\mu$ TBS values of Single Bond 2 were lower than those of Clearfil SE Bond for all storage medium ( $p < 0.05$ ).
2. In Single Bond 2 group, collagenase solution lowered bond strength more than PBS and esterase solution ( $p > 0.05$ ).
3. In Clearfil SE Bond group, esterase solution lowered bond strength more than PBS ( $p > 0.05$ ). Collagenase solution lowered bond strength more than esterase solution ( $p > 0.05$ ) and PBS ( $p < 0.05$ ).

**Key words** : Dentin bond, Collagenase, Esterase, Microtensile bond strength