

## Chlorhexidine 처리가 상아질 접착제의 미세인장결합강도에 미치는 영향

오은화 · 최경규 · 김종률 · 박상진\*  
경희대학교 대학원 치의학과 치과보존학교실

### ABSTRACT

#### EFFECT OF CHLORHEXIDINE ON MICROTENSILE BOND STRENGTH OF DENTIN BONDING SYSTEMS

Eun-Hwa Oh, Kyoung-Kyu Choi, Jong-Ryul Kim, Sang-Jin Park\*  
*Department of Conservative Dentistry, Division of Dentistry,  
Graduate of Kyung Hee University*

The purpose of this study was to evaluate the effect of chlorhexidine (CHX) on microtensile bond strength ( $\mu$ TBS) of dentin bonding systems.

Dentin collagenolytic and gelatinolytic activities can be suppressed by protease inhibitors, indicating that MMPs (Matrix metalloproteinases) inhibition could be beneficial in the preservation of hybrid layers. Chlorhexidine (CHX) is known as an inhibitor of MMPs activity *in vitro*.

The experiment was proceeded as follows :

At first, flat occlusal surfaces were prepared on mid-coronal dentin of extracted third molars. GI (Glass Ionomer) group was treated with dentin conditioner, and then, applied with 2 % CHX. Both SM (Scotchbond Multipurpose) and SB (Single Bond) group were applied with CHX after acid-etched with 37% phosphoric acid. TS (Clearfil Tri-S) group was applied with CHX, and then, with adhesives. Hybrid composite Z-250 and resin-modified glass ionomer Fuji-II LC was built up on experimental dentin surfaces. Half of them were subjected to 10,000 thermocycle, while the others were tested immediately. With the resulting data, statistically two-way ANOVA was performed to assess the  $\mu$ TBS before and after thermocycling and the effect of CHX. All statistical tests were carried out at the 95 % level of confidence. The failure mode of the testing samples was observed under a scanning electron microscopy (SEM).

Within limited results, the results of this study were as follows:

1. In all experimental groups applied with 2 % chlorhexidine, the microtensile bond strength increased, and thermocycling decreased the microtensile bond strength ( $P > 0.05$ ).
2. Compared to the thermocycling groups without chlorhexidine, those with both thermocycling and chlorhexidine showed higher microtensile bond strength, and there was significant difference especially in GI and TS groups.

---

\* Corresponding Author: **Sang-Jin Park**

Professor of Division of Dentistry,  
Graduate School of KyungHee University  
1, Hoegi Dong, Dongdaemun Gu, Seoul, 130-702, Korea  
Tel: 82-2-958-9335  
E-mail: psangjin@khu.ac.kr

3. SEM analysis of failure mode distribution revealed the adhesive failure at hybrid layer in most of the specimen, and the shift of the failure site from bottom to top of the hybrid layer with chlorhexidine groups.

2 % chlorhexidine application after acid-etching proved to preserve the durability of the hybrid layer and microtensile bond strength of dentin bonding systems. [J Kor Acad Cons Dent 33(2):148-161, 2008]

**Key words** : Chlorhexidine, Microtensile bond strength, Durability

- Received 2008.2.28., revised 2008.3.7., accepted 2008.3.10.-

## 1. 서 론

지난 20여 년 동안 치과용 접착시스템은 다단계 상아질 접착시스템부터 최근의 간단한 상아질 접착시스템까지 지속적으로 개발되었다. 전체 산부식 상아질 접착제는 산부식과 수세 과정이 분리되어 있으며 산부식, 프라이머, 그리고 접착 레진을 적용하는 3단계형과 산부식 후 프라이머와 접착이 동시에 일어나는 2단계형으로 나눌 수 있다. 자가부식형 상아질 접착제는 상아질과 법랑질을 동시에 프라이머 처리하는 수세가 필요 없는 산성 단량체를 포함한다. 자가부식형 상아질 접착제는 적용 단계 또는 pH, 그리고 상아질과 법랑질을 탈회시키는 능력에 따라 분류되고 있다. "all-in-one" 1단계 자가부식형 상아질 접착제는 산부식, 프라이머와 접착 레진을 단일화시켜 개발된 제품이다. 그러나 이러한 개발에도 불구하고 치질과의 결합강도와 결합내구성은 임상에서 만족할 만한 수준에 이르지 못하는 실정이다<sup>1)</sup>. 산부식된 상아질에서 상아질 접착제의 상아기질내로의 침투가 불완전하면 혼성층이 변성되어 상아질과 수복용 레진과의 결합 강도가 감소될 수 있다. Hashimoto 등<sup>2)</sup>은 레진-상아질 접착 후 시간이 경과하면 상아질 내의 콜라겐이 가수분해 되어 콜라겐 배열을 불규칙하게 변화시킨다고 보고하였으며, Okuda 등<sup>3)</sup>은 레진-상아질 계면의 장기간 내구성에 대한 연구에서 혼성층 내 콜라겐의 가수분해로 인하여 결합 계면의 파괴 및 결합강도가 감소함을 보고하였다. De Munck 등<sup>4)</sup>은 수중 침지 시 레진-상아질 결합 계면의 혼성층 손상을 확인하였다. Pashley 등<sup>5)</sup>은 효소에 의한 혼성층 내의 콜라겐 붕괴 (degradation)를 보고하였고, 이 효소 중 하나가 MMPs (Matrix metalloproteinases)이며 탈회 후 상아질 유기기질을 분해하는 단백분해효소임을 소개하였다.

치아 상아질 내의 유기 기질은 상아질과 타액에 존재하는

MMPs와 같은 숙주 기원 단백분해효소에 의하여 붕괴될 수 있다<sup>6,7)</sup>. MMPs는 모든 세포의 기질 성분을 변성시키는 포유류가 지닌 효소 중 하나이며, 탈회 후 상아질 유기 기질을 붕괴하는 단백분해효소로서 타액과 치아 상아질에서 유래하는 효소이다. MMPs는 치주염과 같이 조직을 파괴시키는 염증성 질환에 중요한 역할을 하는 숙주기원 단백분해 효소이며, 탈회 상아질의 유기 기질의 분해 능력을 지닌 zinc-dependent 단백분해효소이다<sup>8,9)</sup>. 따라서 상아질 교원질 및 젤라틴 분해 활동은 단백질 분해효소 억제제에 의해 감소될 수 있으며, 이는 MMP 억제제가 혼성층의 내구성 및 상아질과의 결합에 유리할 수 있다는 것을 의미한다.

Chlorhexidine (CHX)은 광범위한 MMPs 억제제의 역할을 한다고 밝혀졌다<sup>6)</sup>. Hebling 등<sup>10)</sup>은 MMPs 억제제인 chlorhexidine을 사용하여 건전한 혼성층이 형성되었음을 관찰하였고, Carrilho<sup>11-14)</sup>도 chlorhexidine이 레진-상아질 간 결합 붕괴를 억제한다고 보고하였다. 특히 MMP-2 (gelatinaseA), MMP-8 (collagenase 2) 및 MMP-9 (gelatinase B)의 활성을 억제한다<sup>15)</sup>. 따라서 레진이 침투된 상아질에서 유기 기질의 파괴를 chlorhexidine의 사용으로 접착성 레진-상아질 결합의 콜라겐 붕괴를 억제하여 결합 내구성을 증가시킬 수 있다.

그러므로 MMPs 억제제로 알려진 chlorhexidine이 접착성 레진과 상아질 간 형성된 혼성층의 붕괴에 어떠한 영향을 미치는가를 구명하는 것은 접착 내구성을 연구하는데 중요한 의미가 있다. 이 연구의 목적은 접착 과정에서 chlorhexidine을 적용 후 글래스 아이오노머 시멘트, 산부식형 접착제 및 자가부식형 접착제를 상아질에 적용하고 복합레진으로 수복한 후 열순환을 시행하여 글래스 아이오노머 시멘트 및 상아질 접착제의 미세인장결합강도를 측정하고 파괴 양상을 분석하여 접착 내구성에 미치는 영향을 평가하는 것이다.

## II. 실험재료 및 방법

### 1. 실험재료

#### 1) 실험치아

우식이 없고 건전한 제3대구치 32개를 발치하여 1% chloramine T 용액에 보관한 후, 미세인장결합강도 측정 및 주사전자현미경 관찰에 이용하였다.

#### 2) 글래스 아이오노머 시멘트 및 상아질 접착제

본 연구에 사용한 글래스 아이오노머 시멘트는 레진 강화형 글래스 아이오노머인 Fuji II LC (GC, Tokyo, Japan)를, 상아질 접착제는 3단계 상아질 접착제인 Scotchbond Multipurpose (3M ESPE, St. Paul, MN, USA), 2단계 산부식형 상아질 접착제 Single Bond (3M ESPE, St. Paul, MN, USA) 및 1단계 자가부식형 상아질 접착제 Clearfil Tri-S (Kuraray, Tokyo, Japan)등 총 4종을 이용하였고, 이들의 특성과 구성성분은 Table 1에서 보는 바와 같다.

### 2. 실험방법

#### 1) 실험군의 분류

저속 diamond saw (Isomet, Buehler Ltd, Lake Bluff, IL, USA)를 이용하여 32개의 제3대구치의 교합면 측 법랑질을 제거한 후, #600 SiC paper로 연마하여 건전한 상아질 표면을 노출시켰다. GI군, SM군, SB군, TS군으로 나누고, 이를 2% CHX를 적용하지 않은 군과 적용한 군

으로 나누고, 다시 열순환을 하지 않은 군과 열순환을 10,000회 시행한 군으로 나누어 각 군에 2개 치아가 포함되어 총 16개 군의 실험군으로 분류하였다 (Figure 1). GI군은 dentin conditioner를 20초 적용하여 수세, 건조 후 2% CHX를 30초 동안 적용하고 blot dry시켰다. SM군은 37% 인산으로 산부식 후 2% CHX를 30초 동안 적용하고 blot dry시킨 상태에서 프라이머 및 접착레진을 도포하고 10초간 광중합하였다. SB군도 37% 인산으로 산부식 후 2% CHX를 30초 동안 적용하고 blot dry시킨 후 접착레진을 도포하고 광중합하였다. TS군은 2% CHX를 30초 적용 후, blot dry시키고 접착레진을 적용 후, 광중합하였다.

각 실험군 치아의 상아질 처리면을 GI군은 레진 강화형 글래스 아이오노머인 Fuji-II LC (GC, Tokyo, Japan)로, 산부식형 접착제군과 자가부식형 접착제군은 각각의 상아질 접착제 도포 후, 혼합형 복합레진인 Z-250 (3M ESPE, St Paul, MN, USA)으로 충전하였다. 상아질 상부에 복합레진 (Z-250)은 각각 2 mm씩 적층하고 광도 600 mW/cm<sup>2</sup> 광중합기 (Spectrum 800: Dentsply, USA)를 사용하여 40초간 광중합하여 총 두께는 총 4 mm로 하였다. 16개의 실험군의 제작된 시편을 24시간 동안 증류수에 보관 후, 저속 diamond saw (Buehler, USA)를 이용하여 치아의 장축을 따라 1 mm 두께로 절단한 후, 이를 다시 수직 절단하여 단면적 약 1 mm<sup>2</sup>이 되도록 막대형 시편을 제작하였다.

각 실험군의 시편 중 절반은 10,000회 열순환하고 나머지 절반은 열순환 하지 않았다. 본 실험에 사용한 열순환기 (항온수조기, TaeWon Tech, Seoul, Korea)는 5℃ 및 55℃의 항온 수조로 구성되며, 시편이 수조에 머무르는 시간은 각각 15초이며, 이동 시간은 6초가 소요되었다. 모든 열

**Table 1.** Materials used in this study

Materials (codes)	Characteristics	Compositions	Manufacturer
Fuji II LC (GI)	Resin-modified glass ionomer (Two-bottle)	Powder: fluoroaluminosilicate glass. Liquid: aqueous solution of polycarboxylic acid, TEGDMA and HEMA	GC (Tokyo, Japan)
Scotchbond Multipurpose (SM)	3-step total etching (Two-bottle)	Primer (water, HEMA, Polyalkenoic acid copolymer), Adhesive (HEMA, Bis-GMA, CQ, EDMAB, DHEPT)	3M (St. Paul, USA)
Single Bond (SB)	2-step total etching (One-bottle)	Adhesive (HEMA, Bis-GMA, Bisphenol A glycerolate dimethacrylate, Polyalkenoic acid copolymer, water, UDMA, ethanol, CQ)	3M (St. Paul, USA)
Clearfil Tri-S Bond (TS)	1-step self etching (One-bottle)	Adhesive (Phosphate ester monomer (10-MDP), Bis-GMA, HEMA, hydrophobic dimethacrylate, di-CQ, ethyl alcohol, water, silanated colloidal silica)	Kuraray (Tokyo, Japan)

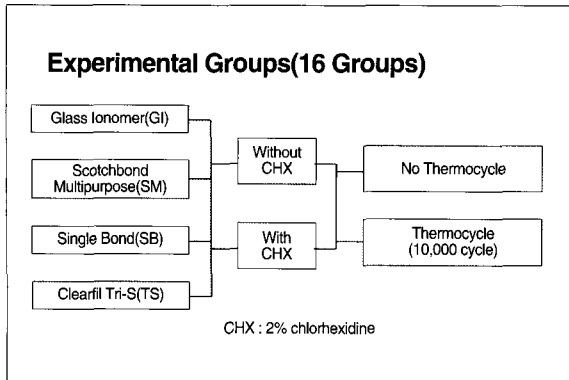


Figure 1. Diagram of experimental groups according to the modes of specimen treatments.

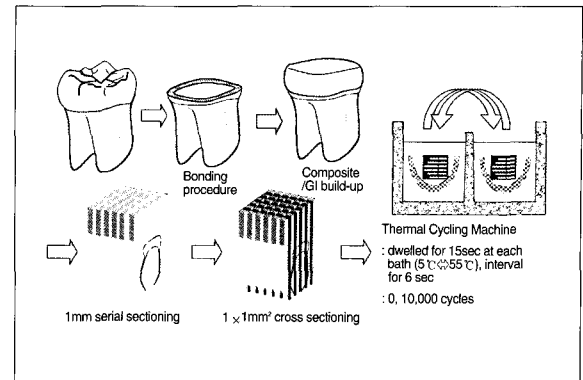


Figure 2. Specimen preparation for microtensile bond testing and thermocycling procedures.

순환 과정은 프로그램에 의하여 자동으로 제어되도록 하였다 (Figure 2).

### 2) 미세인장 결합강도 측정

각 실험군당 제작된 10개의 막대형 시편을 선택하여 미세인장결합강도를 측정하였다. Universal testing machine (EZ-test; Shimadzu, Japan)의 tensile zig에 시편을 부착하고 cross head speed 1 mm/min로 인장력을 가하여, 시편이 파단될 때까지의 최대응력을 단위면적으로 환산하여 미세인장결합강도를 산출하였고 유의수준 0.05 level에서 two-way ANOVA를 이용하여 통계분석하였다.

### 3) 주사전자현미경(SEM) 관찰

미세인장결합강도 측정 후, 파단된 시편의 상아질측 파단면을 평가하기 위하여 주사전자현미경 (SEM)으로 관찰하였다. 10% 인산을 5초간 처리한 후 5% NaOCl에 3분간 처리하여 파단면의 오염된 부분을 제거하였다. 시편을 건조한 후, aluminum stub에 고정하고 gold sputter (SC 502 sputter coater, VG MICROTECH, England) 코팅하여 주사전자현미경 관찰용 시편을 제작하였다. SEM (Stereoscan, Leica cambridge, England)을 이용하여 100배, 1,000배와 2,000배로 파단면을 관찰하였다.

## III. 실험성적

### 1. 미세인장 결합강도

Table 2는 GI, SM, SB, TS군에 CHX 및 열순환 적용 유무에 따른 16개 실험군의 미세인장결합강도의 평균값 및 표준편차를 도표로 나타낸 것이다. GI군은 다른 상아질 접착제에 비하여 미세 인장 강도가 현저하게 낮게 나타났다.

CHX를 적용한 모든 실험군은 적용하지 않은 실험군에 비하여 결합강도가 증가하였다. 그러나 이들 간에 유의성 있는 차이는 없었다 ( $P > 0.05$ ). 10,000회 열순환을 시행한 모든 실험군에서 열순환을 시행하지 않은 실험군보다 미세인장결합강도가 감소하였으며, 이들 간에 유의성 있는 차이는 없었다 ( $P > 0.05$ ). CHX를 적용한 후 열순환한 군은 CHX를 적용하지 않고 열순환한 군에 비하여 결합강도는 증가하였고, GI와 TS군에서는 유의성 있게 증가되었다 ( $P < 0.05$ , Figure 3).

### 2. 주사전자현미경(SEM) 관찰

3단계 산부식형 접착제 SM군의 상아질측 파단면에 대한 주사전자현미경상은 Figure 4-A, B와 같이 혼성층에서의 접착성 파괴로 나타났다. 열순환을 시행한 군에서는 Figure 4-C, D와 같이 혼성층 기저부가 붕괴되어 탈회된 상아질층과 교원질이 노출되어 있었다. CHX를 적용한 군에서는 혼성층의 중간부위에서의 접착성 파괴를 관찰하였으며 레진 tag에 의해 상아세관이 덮히고 접착제가 관상 상아질에 침투되어 있는 것을 볼 수 있다. 이는 Figure 4-E, F에서 관찰되었다. Figure 4-G, H는 CHX 적용 후에 10,000회 열순환시킨 SM군의 파단면으로 혼성층 상부에서의 파괴가 나타났다.

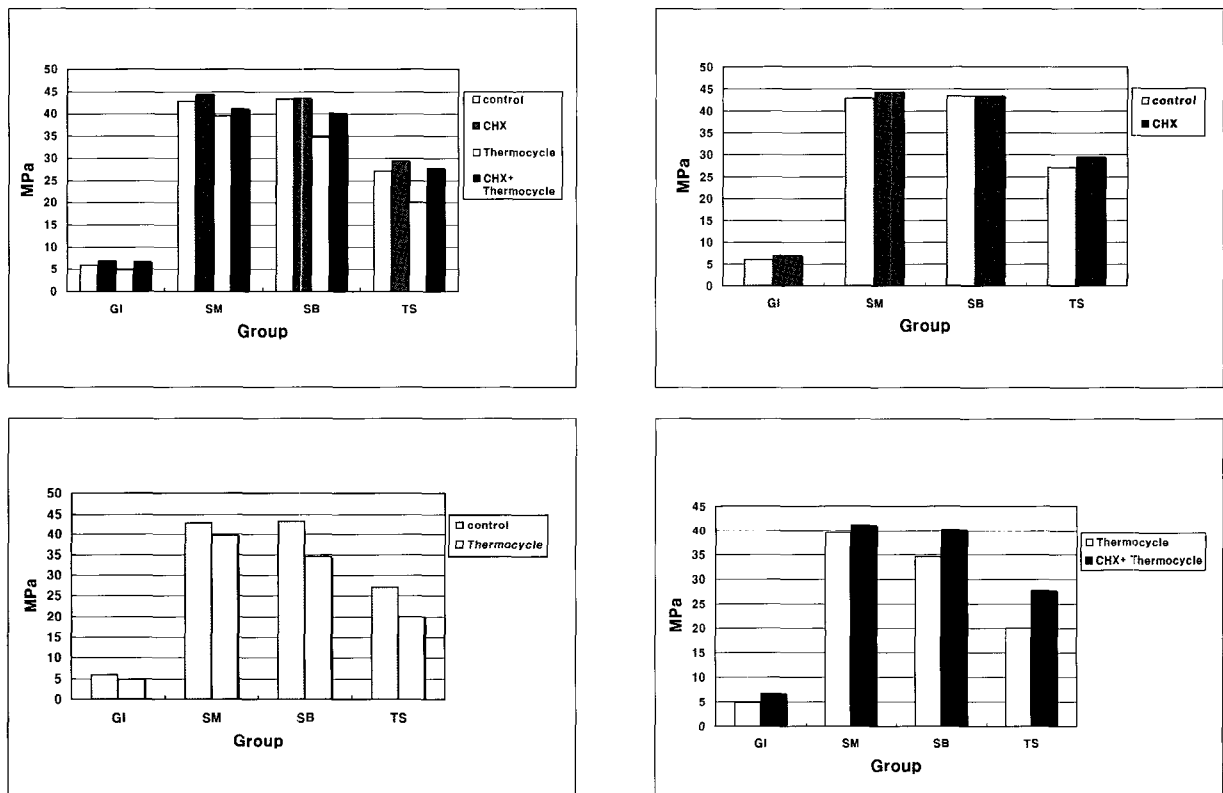
2단계 산부식형 접착제 SB군의 상아질측 파단면에 대한 주사전자현미경상인 Figure 5-A, B에서 혼성층에서의 파괴가 나타났으나 이를 10,000회 열순환시킨 군에서 Figure 5-C, D와 같이 혼성층 기저부가 붕괴되는 파괴 양상을 나타내었다. CHX를 적용 후 열순환한 군에서의 상아질측 파단면에서는 혼성층의 상부가 파괴되었다 (Figure 5-G, H).

1단계 자가부식형 접착제 TS군의 CHX를 적용한 군에서

**Table 2.** Microtensile Bond Strengths (MPa, mean ± SD) of 16 Experimental Groups

Adhesive /Group	Glass Ionomer (GI)		Scotchbond Multipurpose (SM)		Single Bond (SB)		Clearfil Tri-S (TS)	
	without CHX	with CHX	without CHX	with CHX	without CHX	with CHX	without CHX	with CHX
No Thermocycle	5.94 ± 3.12 <sup>a</sup>	6.82 ± 1.25 <sup>a</sup>	42.93 ± 13.44 <sup>a</sup>	44.29 ± 18.20 <sup>a</sup>	43.38 ± 10.99 <sup>a</sup>	43.43 ± 7.93 <sup>a</sup>	27.11 ± 9.50 <sup>a</sup>	29.41 ± 8.96 <sup>a</sup>
Thermocycle (10,000 cycle)	4.79 ± 1.79 <sup>a</sup>	6.65 ± 1.64 <sup>b</sup>	39.58 ± 16.36 <sup>c</sup>	41.17 ± 8.51 <sup>a</sup>	34.59 ± 1.62 <sup>b</sup>	40.21 ± 4.96 <sup>b</sup>	20.00 ± 5.43 <sup>a</sup>	27.71 ± 5.73 <sup>b</sup>

Different superscript letters were significantly different (p < 0.05).



**Figure 3.** The microtensile bond strength (MPa) with/without CHX and thermocycles (10,000 cycles).

혼성층 기저부에서 상부로 파괴 부위가 옮겨가는 유사한 양상으로 나타났다 (Figure 6-G, H). GI군에서는 상아질층 파괴면이 붕괴된 것을 확인하였다 (Figure 7).

#### IV. 총괄 및 고안

치아와 접착제 사이의 안정성은 임상적으로 내구성에 중요한 요소이다. 그러나 시효 처리 후 혼성층의 붕괴로 인하여 결합강도가 감소되고 결국 내구성이 취약하게 된다<sup>(6)</sup>. 또

한 레진-상아질 접착 후 시간이 경과하면 혼성층이 변성되고 콜라겐이 가수분해 되어 상아질과 수복용 레진과의 결합강도가 감소될 수 있다고 여러 연구에서 보고하고 있다<sup>(1-5)</sup>.

혼성층의 교원질 가수분해는 MMPs (Matrix metalloproteinases)의 활성화에 의해 일어난다. MMPs는 탈회된 치아 상아질의 유기기질을 붕괴시키는 단백질효소이다. 결합 조직의 세포 (fibroblast, osteoblast, odontoblast)는 MMP를 합성하며 세포외기질로 분비한다. 이러한 MMPs는 정상인의 타액과 치태, 치은 열구액에 존재한다. 현재까

지 밝혀진 MMPs는 28가지 종류이며 상아질에 존재하는 MMP-2 (gelatinase A), MMP-8 (collagenases 2), MMP-9 (gelatinase B) 및 법랑질에 존재하는 MMP-20 (enamelysin)이 있다. MMP-2, 9은 치배 형성 초기에 존재하며 우식의 진행에 관련된 단백 분해 능력을 가진다. MMP-8은 치주염 또는 peri-implantitis와 같은 조직의 파괴에 관련한다. MMP-20은 법랑모세포와 상아모세포에 의해 발현되며 법랑질 형성에 주된 역할을 하며 법랑질 표층의 amelogenin을 분해한다<sup>17,18</sup>.

MMPs는 signal peptide sequence, amino-terminal catalytic domain (Zn binding site), hemopexin-like carboxy-terminal domain으로 구성된다. Peptide domain에 있는 unpaired cystein sulfhydryl group은 zinc 이온과 작용하며, propeptide domain의 정상적인 능력이 제거되거나 다른 형태로 변화되면서 cystein-zinc가 상호작용할 수 없을 경우 MMPs는 활성화된다. 이는 zinc를 유리시키고 물분자와 결합하여 단백질 구조의 peptide 결합을 공격하게 된다. Catalytic domain이 hemopexin domain과 hinge 부위에서 연결되어 MMP의 기질 특이성을 결정하는 중요한 역할을 한다<sup>9</sup>.

MMPs는 발육, 정상 조직의 재형성 및 혈관신생과 같은 생물학적 과정을 담당한다. 또한 cytokines과 chemokines와 같은 분자 기능을 조절하며, 조직의 항상성, 염증반응, 숙주의 방어 기전과 같은 훨씬 더 복잡한 역할을 담당한다. 그리고 창상 치유, 죽종(粥腫), 관절염, 암, 조직 케양과 같은 질병과 관련이 있다. 세균으로부터의 산에 의해 탈회된 상아질 파괴를 담당하며 따라서 치아 우식 진행과 관련된다. 또 MMPs는 치주염과 같이 조직을 파괴시키는 염증성 질병에 중요한 역할을 하는 숙주세포기원 단백질분해효소이며 탈회 상아질의 유기 기질의 분해 능력을 지닌 zinc-dependent 단백질분해효소이다<sup>19-23</sup>.

본 실험에 사용된 CHX은 MMP-2, MMP-8, MMP-9의 능력을 억제하는 역할을 한다<sup>6</sup>. 이 중 MMP-2는 MMP-8, 9보다 단백 분해 능력을 더욱 억제시킨다. CHX은 MMPs의 활성 부분인 Zn+와 킬레이션하여 sulfhydryl group and/or cystein과 상호 작용함으로써 억제제의 역할을 한다. 그러나 높은 농도의 CHX은 이온의 킬레이션에 의해서라기보다 단백질 변성에 의해 비활성화된다고 알려져 있다. 이러한 단백 분해 활성은 MMP-2를 억제하는 것이며 이것은 콜라겐 I, II, III를 분해한다<sup>24,25</sup>. 레진이 침투된 상아질에서 일어나는 콜라겐 기질의 파괴가 MMP 억제제의 역할을 하는 CHX의 사용으로 억제될 수 있으며 낮은 농도 (0.03%)의 CHX도 MMP 억제 능력을 가진다고 보고하고 있다<sup>5, 26-28</sup>.

최근 MMPs 억제제로서 CHX이 연구가 계속되면서 상아질-레진간의 접착 시행한 지 6개월 경과 후 CHX을 적용한

실험군에서 CHX을 적용하지 않은 대조군보다 미세인장결합강도가 우수함을 보고하였다<sup>11</sup>. 이는 혼성층과 혼성층 하부의 교원질 원섬유의 변성을 일으키는 상아질 기질에 결합된 MMPs의 역할이 CHX에 의해 억제되었기 때문으로 해석된다. 그러나 상아질 접착제 종류에 따른 CHX의 영향에 대한 연구는 보고된 예가 없었다. 따라서 본 실험에서는 RMGI (Resin-modified glass ionomer)인 Fuji II LC, 3단계 산부식형 접착제인 Scotchbond Multipurpose, 2단계 산부식형 접착제인 Single Bond, 1단계 자가부식형 접착제인 Clearfil Tri-S에 CHX을 적용하고 10,000회 열순환을 시행하였을 때의 미세인장결합강도를 측정하여 초기 결합강도와 비교하여 접착제의 내구성을 평가하는데 목적이 있었다.

글래스 아이오노머 시멘트는 치질에 결합 능력을 갖는 수복재이다. Polyalkenoic acid로 짧게 전처리하여 치아 표면을 깨끗하게 함과 동시에 도말층을 제거하고 교원 섬유를 0.5 ~ 1  $\mu\text{m}$  깊이로 노출시킨다<sup>29</sup>. 글래스 아이오노머 성분이 교원 섬유 사이사이로 확산되어 미세 기계적 결합을 형성한다<sup>30,31</sup>. 또한 polyalkenoic acid의 카르복실기와 교원 섬유에 부착되어 남아있는 수산화인회석 칼슘 이온 사이에 화학적으로 결합된다<sup>32</sup>. 이 부가적인 화학 결합이 가수 분해에 저항한다는 점에서 10,000회 열순환 후에도 미세인장결합강도가 유의성 있게 감소하지 않는다는 것을 설명할 수 있다. GI군에 CHX을 적용한 군에서 미세인장결합강도가 증가하였으나 통계학적 유의성은 없었다. 이를 10,000회 열순환시킨 군에서 CHX을 적용하지 않고 열순환한 군에 비해 통계학적 유의성이 있는 결합강도의 증가를 보였다. 이는 교원섬유의 가수 분해는 교원 섬유의 일부분만 노출되는 상황에서 억제될 수 있는 것으로 생각된다. 결합 강도가 10 MPa 이하에서는 진단 결합강도의 측정을 하는 것이 바람직하나 다른 접착제와 비교를 위하여 미세인장결합강도를 측정하였다.

본 연구에서 3단계 산부식형 접착제로는 Scotchbond Multipurpose과 2단계 산부식형 접착제로는 Single Bond를 사용하였다. 이를 사용한 실험군에서 10,000회 열순환하면 결합 강도가 감소하였으나, 유의성 있는 차이는 없었다 ( $P > 0.05$ , Figure 3). 수중 보관뿐 아니라 열순환에 의해서도 계면의 가수 분해성 파괴에 의해 결합 효능이 감소되기 쉬운 경향이 있다는 보고가 있으나<sup>7</sup>, 이번 실험에서는 열순환으로 인한 유의성 있는 결합강도의 감소는 보이지 않았다. 또한 본 실험에서 산부식 후 CHX을 30초 적용하고 blot dry한 상태에서 접착제를 도포하고 광조사한 실험군에서 결합 강도가 증가하였으나, 유의성 있는 차이가 없었다. 즉, CHX은 초기 미세인장결합강도에는 영향을 미치지 않았다. 그러나 1년 경과 후의 구강 환경을 재현하는 10,000회 열순환을 시행하였을 경우, 산부식 후 CHX을 적용한 군

이 적용하지 않은 군보다 결합 강도의 감소가 적었으나, 이들 간에 유의성 있는 차이는 없다고 보고하였다<sup>33)</sup>. 따라서 CHX이 MMPs 억제제로서 혼성층의 가수분해를 억제시키는 것으로 설명할 수 있다. 그러나 고분자의 polyalkenoic acid copolymer의 혼합과 관련 있다는 가설<sup>4)</sup>을 생각해 볼 수 있다. 상 분리는 copolymer가 교원질 그물망에 여과되어 그물망의 표면에 겹쳐림 침착되면서 발생하는 것으로 보인다<sup>34,35)</sup>. 또한 저분자량의 2-HEMA가 침투되어 있는 교원질과 잔존 수분으로 구성된 혼성층이 레진의 계면 확산을 방해하기 때문에 혼성층으로의 접착제 성분이 충분히 침투, 중합되지 못해 파괴되기 쉽다고 할 수 있다<sup>16)</sup>. 따라서 혼성층의 교원질 가수분해를 억제시키는 역할을 할 것으로 생각되는 CHX을 적용하여도 결합 강도에는 크게 영향이 없음을 설명할 수 있을 것이다.

1단계 자가부식 접착시스템인 Clearfil Tri-S를 사용한 TS군에서 미세인장결합강도가 27.11 MPa 이었으며, 열순환을 시행한 후 결합강도가 감소하였으나 유의성 있는 차이는 없었다 ( $P > 0.05$ ). 2% CHX을 30초 적용 후 blot dry 및 접착레진을 도포하고 광중합 시행한 실험군에서 결합 강도가 증가하였으나, 유의성 있는 차이는 없었다. CHX을 적용하고 열순환을 시행한 군은 CHX을 적용하지 않고 열순환한 군에 비해서 결합강도가 증가하였으며 ( $P < 0.05$ ) 이는 CHX의 MMPs 교원질 붕괴 억제 작용으로 생각된다. 즉, CHX의 적용이 혼성층의 가수 분해를 억제시키고 결국 상아질 접착제의 내구성을 증가시킬 수 있음을 의미한다. 1단계 자가부식 접착 시스템을 적용한 실험군에서처럼 약한 산부식이 일어나거나, 글래스 아이오노머를 사용한 실험군의 교원섬유 일부만 노출되는 상황에서 교원섬유의 가수분해가 억제될 수 있다. 또한 접착 과정에 적절한 결합 파괴 억제제를 혼합 첨가함으로써 교원섬유의 가수분해 억제가 가능할 수도 있다<sup>16)</sup>. 이러한 가능성에 대하여 Clearfil Tri-S 접착제의 주요 성분인 phosphate ester monomer (10-MDP)와 CHX의 상호 작용에 대한 연구로 이를 규명하여야 할 것으로 생각된다.

SEM 연구를 통한 파괴 양상 분석 결과, 대부분에서 접착층과 복합레진에서의 응집성 파괴 및 일부 혼성층에서의 접착성 파괴를 보이는 혼합형 파괴가 나타났다. 열순환한 군에서 혼성층의 기저부에 국한된 파괴를 보였다. CHX을 적용한 군에서는 혼성층 중간 부위에서의 접착성 파괴를 나타내며 레진 tag에 의해 상아 세관이 덮히고 접착제가 관간 상아질에 침투되어 있는 것을 알 수 있다. CHX 적용 후 열순환한 실험군은 혼성층 상부에서의 파괴 양상을 보인다. 이와 같이 혼성층 기저부에서 상부로 파괴 양상이 변화되는 것은 혼성층 교원 기질의 보호로 결합 강도가 증가된 것을 의미한다. 이는 탈회의 진행과 상아질의 교원질이 분해되어 혼성층 하부의 역할이 억제되기 때문이다<sup>11)</sup>. GI군에서는 접

착성 파괴를 보였으며 파단면이 붕괴된 것을 확인할 수 있었다. 그러나 상아질 접착제와 같이 접착 계면을 접착층과 혼성층으로 구분할 수 없었다.

본 연구에서는 MMPs 억제제로 알려진 CHX을 글래스 아이오노머 시멘트와 수종의 상아질 접착제에 적용하여 접착 내구성에 대한 영향을 평가하였다. 추가적으로 접착 내구성을 증가시키기 위한 적절한 CHX의 농도 및 적용 시간에 따른 연구의 필요성이 인정되었다. 본 실험에서 사용한 MMPs 억제제로서 CHX의 효과는 완벽한 상아질 접착제의 접착 내구성을 증명하기에는 다소 미흡하다고 생각되어 CHX 외에도 EDTA 등과 같은 MMPs 억제제에 대한 연구가 지속되어 상아질-접착제 계면의 접착 유지에 관련된 최적의 MMPs 억제제가 개발되어야 할 것이다.

#### IV. 결 론

글래스 아이오노머 시멘트, 산부식형 접착제인 Scotchbond Multipurpose, Single Bond, 자가부식형 접착제인 Clearfil Tri-S에 2% CHX 적용 시 초기 결합강도와 열순환 처리에 따른 결합강도를 측정, 비교 분석하여, 다음과 같은 결론을 얻었다:

1. 2% CHX을 적용한 모든 실험군에서 상아질과의 미세인장결합강도가 증가하였고, 열순환은 상아질과의 미세인장결합강도를 감소시켰다 ( $P > 0.05$ ).
2. CHX 적용 후 열순환 한 군은 CHX을 적용하지 않고 열순환 한 군에 비하여, 상아질과의 미세인장결합강도가 높았으며, 특히 GI와 TS군에서 유의한 차이를 나타내었다 ( $P < 0.05$ ).
3. 파괴 양상 분석 결과, 혼성층에서의 접착성 파괴를 보이며, CHX을 적용하면 혼성층 기저부에서 상부로 파괴 부위가 옮겨가는 양상을 나타내었다.

MMPs 억제제인 2% CHX은 글래스 아이오노머 시멘트와 상아질 접착제의 초기 미세인장결합강도에는 영향을 미치지 않으며, CHX 적용이 접착 내구성 유지에 도움이 되었다.

#### 참고문헌

1. Van Meerbeek B, Perdigao J, Lambrechts P. The clinical performance of adhesives. *J Dent* 26:1-20, 1998.
2. Hashimoto M, Ohno H, Sano H. *In vitro* degradation of resin-dentin bonds analyzed by microtensile bond test, scanning and transmission electron microscopy. *Biomaterials* 24:3795-3803, 2003.
3. Okuda M, Pereira PNR, Nakajima M. Long-term durability of resin dentin interface: nanoleakage vs microtensile bond strength. *Oper Dent* 27:289-296, 2002.
4. De Munck J, Van Meerbeek B, Yoshida Y. Four-year

- Water Degradation of Total-etch Adhesives Bonded to Dentin. *J Dent Res* 2:136-140, 2003.
5. Pashley DH, Tay FR, Yiu C. Callagen Degradation by Host-derived Enzymes during Aging. *J Dent Res* 83:216-221, 2004.
  6. Gendron R, Grenier D, Sorsa T. Inhibition of the activities of matrix metalloproteinases 2, 8, and 9 by chlorhexidine. *Clin Diagn Lab Immunol*:437-439, 1999.
  7. Hashimoto M, Ohno H, Kaga M. *In vivo* degradation of resin-dentin bonds in humans over 1 to 3 years. *J Dent Res* 79:1385-1391, 2000.
  8. Chaussain-Miller C, Fioretti F, Goldberg M. The role of matrix metalloproteinases(MMPs) in Human Caries. *J Dent Res* 85:22-32, 2006.
  9. Sorsa T, Tjaderhane L, Salo T. Matrix metalloproteinases(MMPs) in oral disease. *Oral Disease* 10:311-318, 2004.
  10. Hebling J, Pashley DH, Tjaderhane L. Chlorhexidine arrests subclinical degradation of dentin hybrid layers *in vivo*. *J Dent Res* 84:741-746, 2005.
  11. Carrilho MR, Carvalho RM. Chlorhexidine preserves dentin bond *in vitro*. *J Dent Res* 86:90-94, 2007.
  12. Carrilho MR, Tay FR, Pashley DH. Mechanical stability of resin- dentin bond components. *Dent Mater* 21:232-241, 2005.
  13. Carrilho MR, Carvalho RM, Tay FR. Durability of resin-dentin bonds related to water and oil storage. *Am J Dent* 18:315-319, 2005.
  14. De Castro F, De Andrade M. Effect of 2% chlorhexidine on microtensile bond strength of composite to dentin. *J Adhes Dent* 5:129-138, 2003.
  15. Martin-De Las Heras S, Valenzuela A, Overall CM. The matrix metalloproteinases gelatinases A in human dentin. *Arch Oral Biology* 45:757-765, 2000.
  16. De Munck J, Van Landuyt K, Peumans M. A critical review of the durability of adhesion to tooth tissue: methods and results. *J Dent Res* 84:118-132, 2005.
  17. Nagase H, Visse R, Mruphy G. Structure and function of matrix metalloproteinases and TIMPs. *Cardiovascular Res* 69:562-573, 2006.
  18. Nishitani Y, Yoshiyama M, Wadgaonkar B. Activation of gelatinolytic/collagenolytic activity in dentin by self-etching adhesives. *Eur J Oral Sci* 114:160-166, 2006.
  19. Dumas J, Hurion N, Weill R. Collagenases in mineralized tissues of human teeth. *FEBS Lett* 187:51-55, 1985.
  20. Sulkala M, Wahlgren J, Larman M. The effects of MMP inhibitors on human salivary MMP activity and caries progression in rat. *J Dent Res* 80:1545-1549, 2001.
  21. Traderhane L, Larjava H, Sorsa T. The activation and function of host matrix metalloproteinases in dentin matrix breakdown in caries lesions. *J Dent Res* 77:1622-1629, 1998.
  22. Van Strijp AJ, Van Steenberghe TJ, De Graaff J. Bacterial colonization and degradation of demineralized dentin matrix *in situ*. *Caries Res* 28:21-27, 1994.
  23. Van Strijp AJ, Van Steenberghe TJ, ten Cate JM. Bacterial colonization of mineralized and completely demineralized dentin *in situ*. *Caries Res* 31:349-355, 1997.
  24. Birkedal-Hansen H, Moore WG, Bodden MK. Matrix metalloproteinases: a review. *Crit Rev Oral Biol Med* 4:197-250, 1993.
  25. Bode W, Fernandez-Catalan C, Tschesche H. Structural properties of matrix metalloproteinases. *Cell Mol Life Sci* 55:639-652, 1999.
  26. Van Strijp AJ, Jansen DC, DeGroot J. Host-derived proteinases and degradation of dentine collagen *in situ*. *Caries Res* 37:58-65, 2003.
  27. Brackett WW, Tay FR, Brackett MG. The effect of chlorhexidine on dentin hybrid layers *in vivo*. *Oper Dent* 32:107-111, 2007.
  28. Carrilho MR, Geraldini S, Tay F. *In vivo* preservation of the hybrid layer by chlorhexidine. *J Dent Res* 86:529-533, 2007.
  29. Inoue S, Van Meerbeek B, Abe Y. Effect of remaining dentin thickness and the use of conditioner on micro-tensile bond strength of glass ionomer adhesive. *Dent Mater* 17:445-455, 2001.
  30. Lin A, McIntyre NS, Davidson RD. Studies on the adhesion of glass ionomer cements to dentin. *J Dent Res* 71:1836-1841, 1992.
  31. Van Meerbeek B, Vargas S, Inoue S. Adhesives and cements to promote preservation dentistry. *Oper Dent* 26:S119-S144, 2001.
  32. Yoshida Y, Van Meerbeek B, Nakayama Y. Evidence of chemical bonding at biomaterial-hard tissue interfaces. *J Dent Res* 79:709-714, 2000.
  33. Gale MS, Darvell BW. Thermal cycling procedures for laboratory testing of dental restorations. *J Dent* 27:89-99, 1999.
  34. Van Meerbeek B, Conn LJ Jr, Duke ES. Correlative transmission electron microscopy examination of non-demineralized and demineralized resin-dentin interfaces formed by two dentin adhesive systems. *J Dent Res* 75:879-888, 1996.
  35. Eliades G, Vougiouklakis G, Palaghias G. Heterogeneous distribution of single-bottle adhesive monomers in the resin-dentin interdiffusion zone. *Dent Mater* 17:277-283, 2001.



## LEGENDS OF FIGURES

**Figure 4.** SEM images of fractured surfaces after microtensile bond strength testing of SM.

- |                                            |                                             |
|--------------------------------------------|---------------------------------------------|
| (A) No CHX/No Thermocycle ( $\times 100$ ) | (B) No CHX/No Thermocycle ( $\times 2000$ ) |
| (C) No CHX/10,000cycles ( $\times 100$ )   | (D) No CHX/10,000cycles ( $\times 2000$ )   |
| (E) CHX/No Thermocycle ( $\times 100$ )    | (F) CHX/No Thermocycle ( $\times 2000$ )    |
| (G) CHX/10,000 cycles ( $\times 100$ )     | (H) CHX/10,000 cycles ( $\times 2000$ )     |

A,B show adhesive failure. C,D show adhesive failure at the bottom of hybrid layer and resin tag are broken or left out of dentinal tubules. E,F show adhesive failure at hybrid layer intertubular dentin seems to be completely covered by adhesive (DT: dentinal tubule, C: composite resin, HL: hybrid layer).

**Figure 5.** SEM images of fractured surfaces after microtensile bond strength testing of SB.

- |                                            |                                             |
|--------------------------------------------|---------------------------------------------|
| (A) No CHX/No Thermocycle ( $\times 100$ ) | (B) No CHX/No Thermocycle ( $\times 2000$ ) |
| (C) No CHX/10,000cycles ( $\times 100$ )   | (D) No CHX/10,000cycles ( $\times 2000$ )   |
| (E) CHX/No Thermocycle ( $\times 100$ )    | (F) CHX/No Thermocycle ( $\times 2000$ )    |
| (G) CHX/10,000 cycles ( $\times 100$ )     | (H) CHX/10,000 cycles ( $\times 2000$ )     |

A,B show adhesive failure at hybrid layer. C,D show mixed failure at the bottom of hybrid layer. G,H show mixed failure at top of the hybrid layer. (HL: hybrid layer, DT: dentinal tubule)

**Figure 6.** SEM images of fractured surfaces after microtensile bond strength testing of TS.

- |                                            |                                             |
|--------------------------------------------|---------------------------------------------|
| (A) No CHX/No Thermocycle ( $\times 100$ ) | (B) No CHX/No Thermocycle ( $\times 2000$ ) |
| (C) No CHX/10,000cycles ( $\times 100$ )   | (D) No CHX/10,000cycles ( $\times 2000$ )   |
| (E) CHX/No Thermocycle ( $\times 100$ )    | (F) CHX/No Thermocycle ( $\times 2000$ )    |
| (G) CHX/10,000 cycles ( $\times 100$ )     | (H) CHX/10,000 cycles ( $\times 2000$ )     |

G,H show the shift of the failure site from the bottom to the top of the hybrid layer. (DT: dentinal tubule, HL: hybrid layer, C: composite resin)

**Figure 7.** SEM images of fractured surfaces after microtensile bond strength testing of GI.

- |                                            |                                             |
|--------------------------------------------|---------------------------------------------|
| (A) No CHX/No Thermocycle ( $\times 100$ ) | (B) No CHX/No Thermocycle ( $\times 2000$ ) |
| (C) No CHX/10,000cycles ( $\times 100$ )   | (D) No CHX/10,000cycles ( $\times 2000$ )   |
| (E) CHX/No Thermocycle ( $\times 100$ )    | (F) CHX/No Thermocycle ( $\times 2000$ )    |
| (G) CHX/10,000 cycles ( $\times 100$ )     | (H) CHX/10,000 cycles ( $\times 2000$ )     |

Figures ①

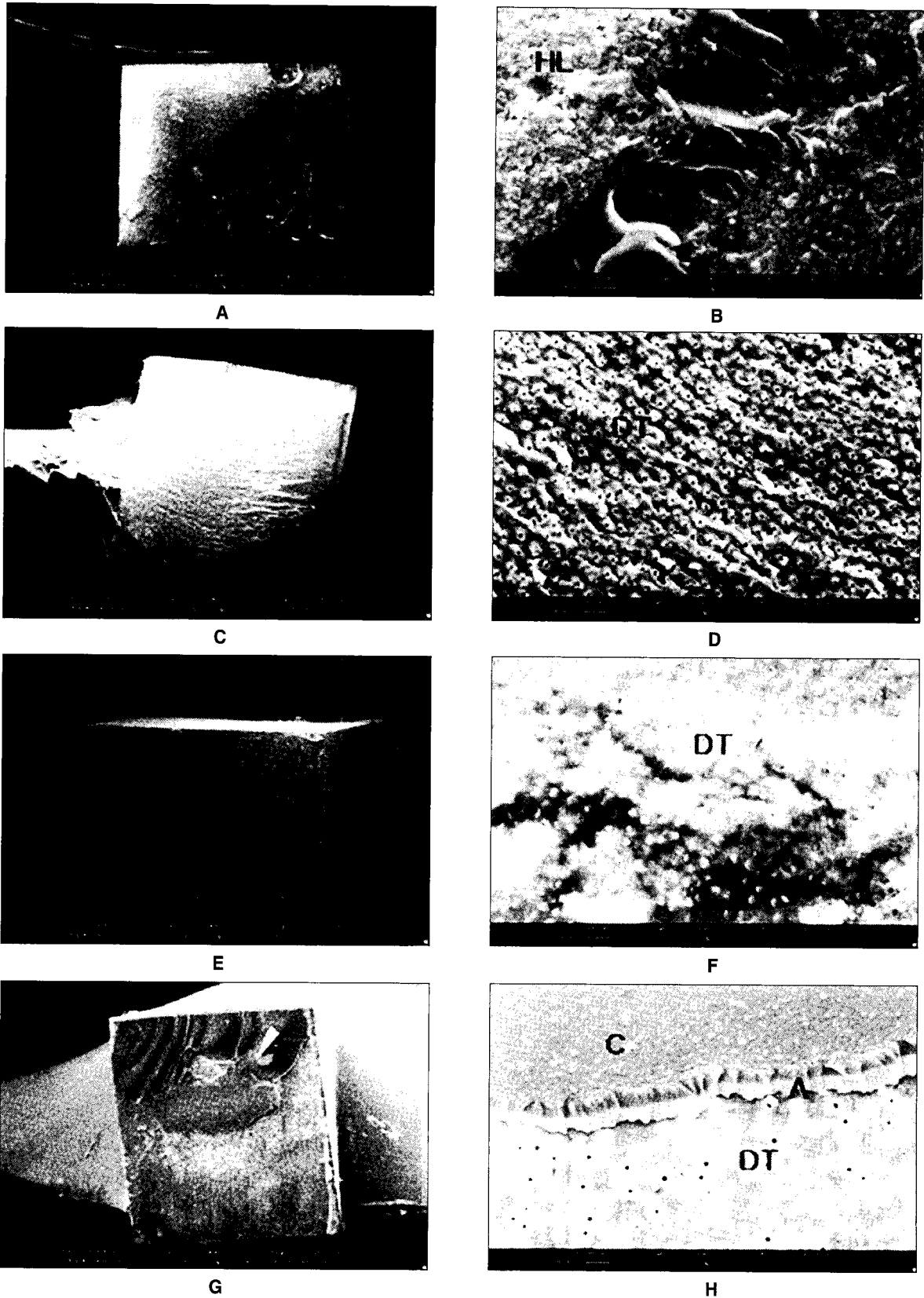


Figure 4

Figures ②

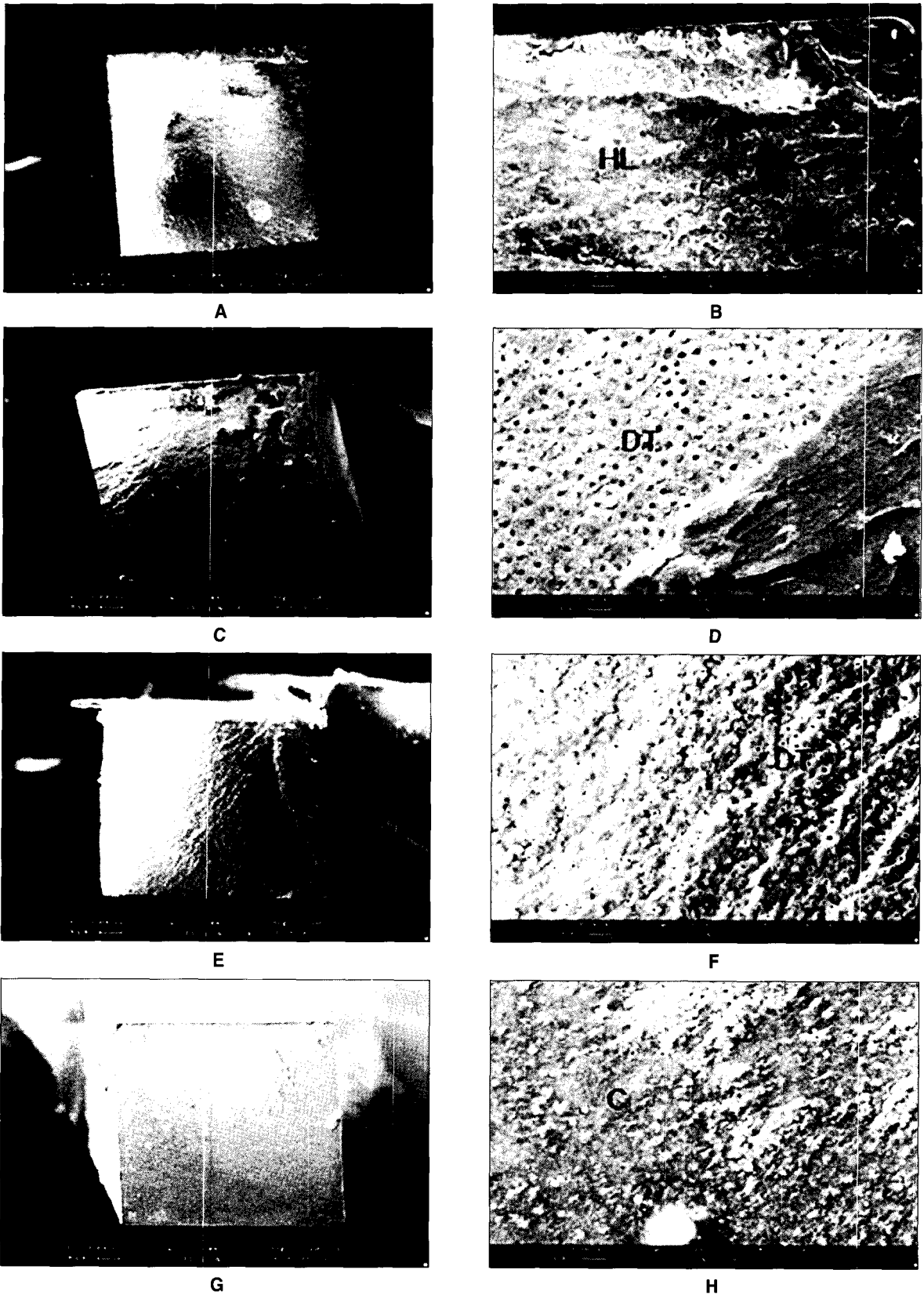


Figure 5

Figures ③

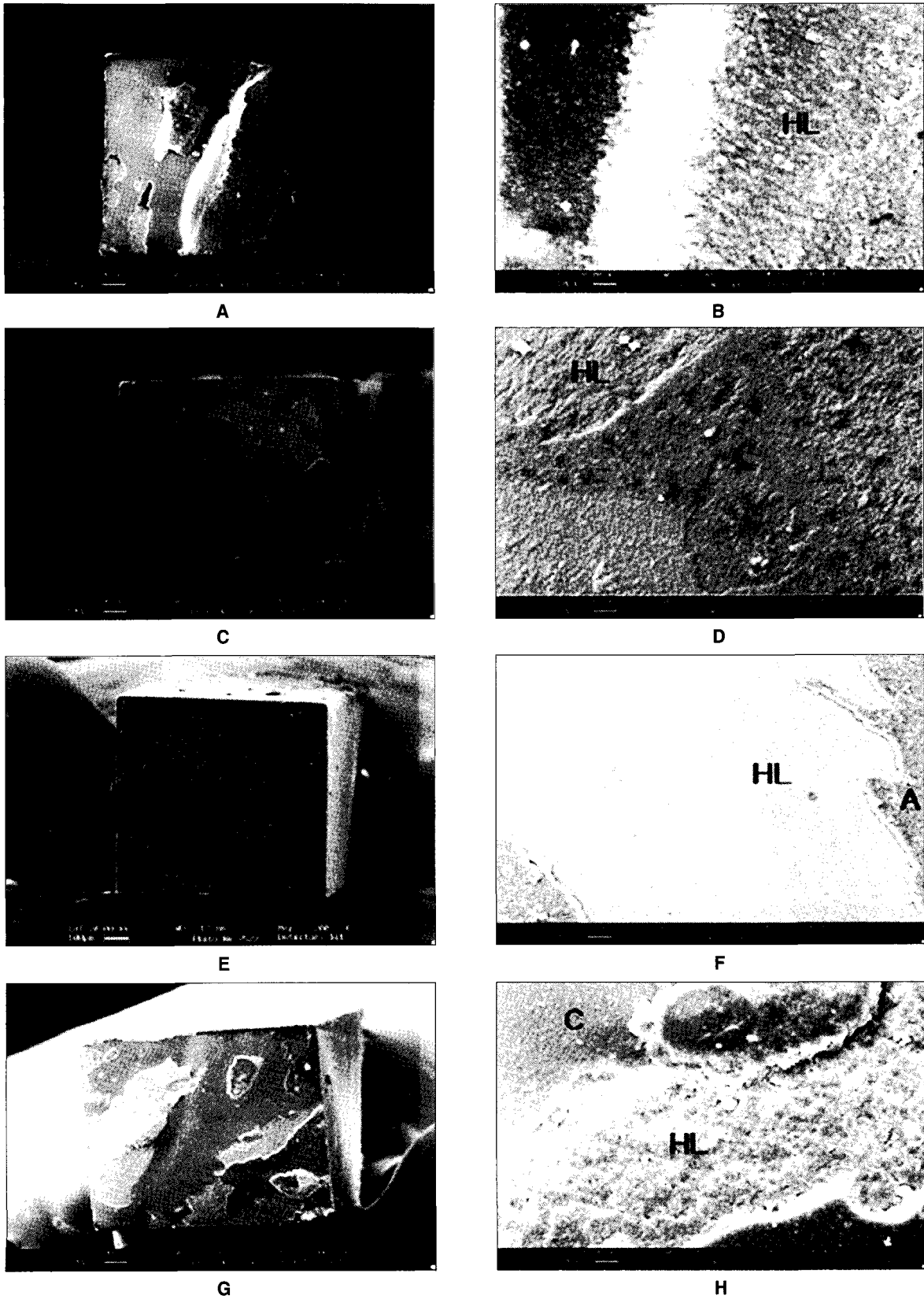


Figure 6

Figures ④

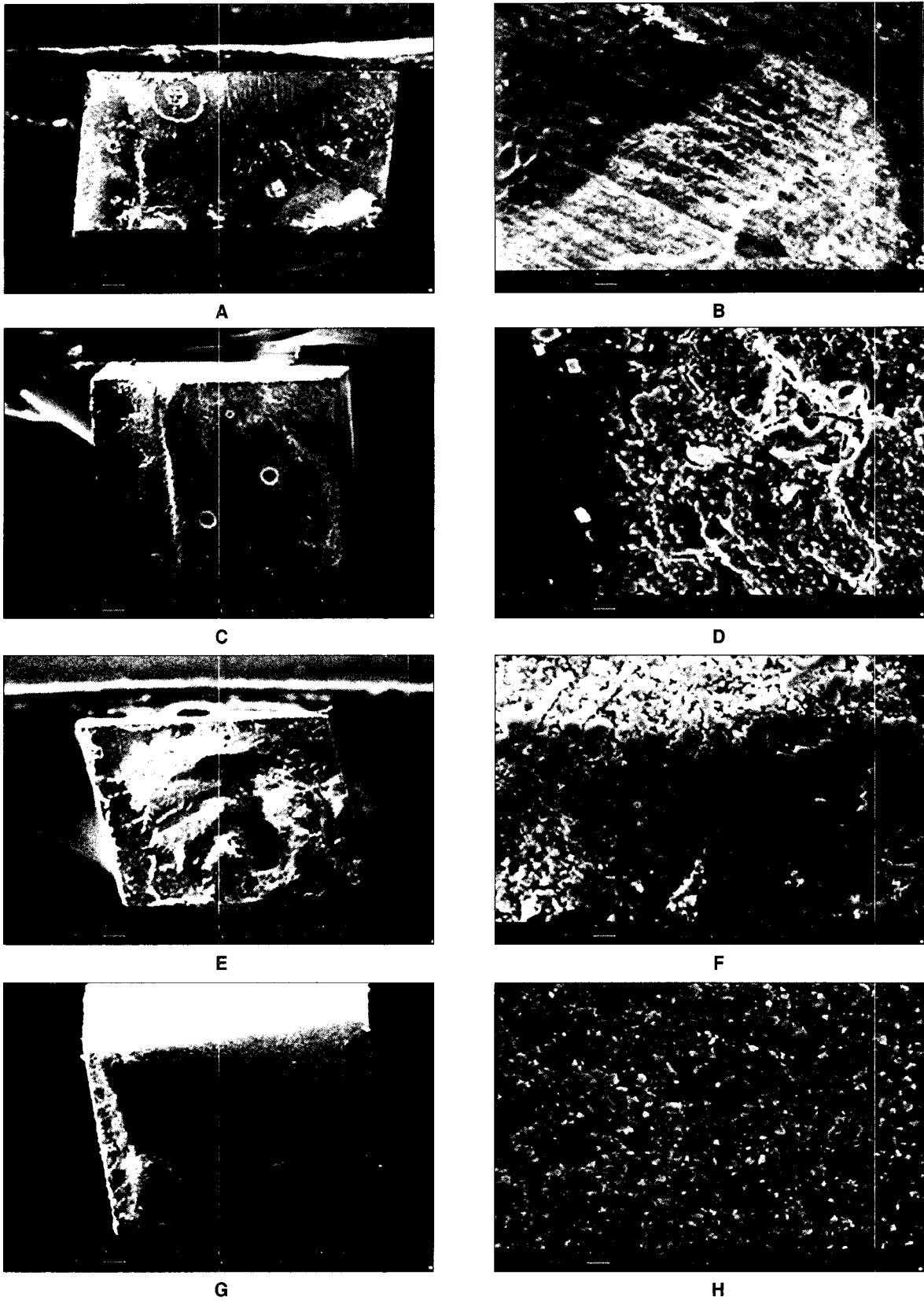


Figure 7

## 국문초록

## Chlorhexidine 처리가 상아질 접착제의 미세인장결합강도에 미치는 영향

오은화 · 최경규 · 김종률 · 박상진\*

경희대학교 대학원 치의학과 치과보존학교실

본 연구는 상아질 혼성층의 교원섬유를 가수분해하는 효소인 MMPs (Matrix metalloproteinases)의 억제제로 알려진 chlorhexidine (CHX)을 적용 후 결합강도를 측정하였으며, 이를 각각 열순환 처리 후 결합강도를 측정하였다. 또한 주사전자현미경으로 접착계면에서의 파괴 양상을 비교 분석하였다.

우식이 없는 발거한 32 개의 제 3 대구치의 교합면 상아질을 노출시키고 GI그룹에서는 dentin conditioner를 처리 후 2% chlorhexidine을 적용시키고, 산부식 접착제 그룹에서는 인산 산부식을 시행하고 2% chlorhexidine을 적용 후 3 단계 산부식형 상아질 접착제 (Scotchbond Multipurpose, SM), 2 단계 산부식형 상아질 접착제 (Single Bond, SB)를 도포하고, 자가부식 접착제 그룹에서는 2% chlorhexidine 적용 후 자가부식 상아질 접착제 (Clearfil Tri-S, TS)를 도포한다. 이후 복합 레진 (Z-250)과 GI (Fuji-II LC)를 충전한 시편을 1 mm<sup>2</sup>의 단면을 갖는 beam으로 제작하여 열순환 하지 않거나, 10,000 회 열순환 (5 ~ 55 °C)하였다. Universal testing machine (EZ-test; Shimadzu, Japan)에서 cross head speed 1 mm/min로 인장력을 가하여, 미세인장결합강도를 측정하였다. 실험 결과는 유의수준 0.05 level에서 two-way ANOVA를 이용하여 통계분석하였다. 그 후 파절된 시편의 파괴 양상을 현미경 (SEM)으로 관찰하여 다음과 같은 결론을 얻었다;

1. 2% CHX을 적용한 모든 실험군에서 상아질과의 미세인장결합강도가 증가하였고, 열순환은 상아질과의 미세인장결합강도를 감소시켰다 ( $P > 0.05$ ).
2. CHX 적용 후 열순환 한 군은 CHX을 적용하지 않고 열순환한 군에 비하여, 상아질과의 미세인장결합강도가 높았으며, 특히 GI와 TS군에서 유의한 차이를 나타내었다 ( $P < 0.05$ ).
3. 파괴 양상 분석 결과, 혼성층에서의 접착성 파괴를 보이며, CHX을 적용하면 혼성층 기저부에서 상부로 파괴 부위가 옮겨가는 양상을 나타내었다.

이상의 연구 결과를 토대로, MMPs 억제제인 2% CHX은 글래스 아이오노머 시멘트와 상아질 접착제의 초기 미세인장결합강도에는 영향을 미치지 않으며, CHX 적용이 접착 내구성을 유지하는데 도움이 되었다.

**주요어:** Chlorhexidine, 미세인장결합강도, 내구성