creative commons

COMMONS DEED

저작자표시-비영리-변경금지 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:

저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.

비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.

변경금지. 귀하는 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공할 수 없습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 이용허락규약(Legal Code)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

Disclaimer

dCollection

치의과학석사 학위논문

벌크필 복합 레진의 급속 고강도 광 중합 시 용출물 분석과 세포독성, 굴곡강도, 표면경도에 대한 연구

2023년 8월

서울대학교 대학원

치의과학과 치과생체재료과학 전공

금 혜 조

벌크필 복합 레진의 급속 고강도 광중합 시 용출물 분석과 세포독성, 굴곡강도, 표면경도에 대한 연구

지도 교수 정 신 혜

이 논문을 치의과학석사 학위논문으로 제출함
2023년 8월

서울대학교 대학원
치의과학과 치과생체재료과학 전공
금 혜 조

금혜조의 치의과학석사 학위논문을 인준함
2023년 8월

위 원 장 임 범 순 (인)

부위원장 정 신 혜 (인)

위 원 안 진 수 (인)

국문 초록

벌크필 복합 레진의 급속 고강도 광중합 시 용출물 분석과 세포독성, 굴곡강도, 표면경도에 대한 연구

서울대학교 치과생체재료과학 전공

(지도 교수 정 신 혜)

금 혜 조

1. 목적: 본 연구에서는 수 종의 벌크필 복합 레진을 급속 고강도 광중합 모드와 표준 모드로 중합했을 때 용출물 분석과 세포독성, 굴곡강도, 표면경도를 비교하여 평가하였다.

2. 재료 및 방법: 2종의 응축형 벌크필 복합 레진인 Filtek One Bulk Fill Restorative (Ffill, 3M ESPE), Tetric PowerFill (Pfill, Ivoclar Vivadent)과 3종의 유동형 벌크필 복합 레진인 Filtek Fill and Core Flowable Restorative (Fflow, 3M ESPE), Tetric PowerFlow (Pflow, Ivoclar Vivadent), SureFill SDR Plus (SDR, Dentsply)를 1종의 재래식 응축형 Tetric N-Ceram (TNC, Ivoclar Vivadent)과 비교 평가하였다. 실험군은 Valo 광중합기(Ultradent)의 고강도 모드 (V1군: 3200mW/cm^2, 3초)로, 대조군은 표준 모드 (V2군: 1000mW/cm^2, 20초)로 중합하여 시편을 제작하였다. 용출물 분석은 기체 크로마토그래피/질량 분석법을 사용하였으며, 시편을 배지에 용출하여 세포독성을 평가하였다. 3점 굴곡 시험을 시행하여 굴곡강도를 평가하였으며, 비커스 미세경도를 이용하여 표면의 미세경도와 시편 상·하부의 경도 비율을 평가하였다. ANOVA와 Bonferroni 사후분석법으로 통계학적 유의성을 분석하였다(α=0.05).

3. 결과: 용출물 분석 결과 각 시편에서의 Butyl Hydroxytoluene, Camphorquinone, 4-N,N dimethyl aminobenzoic acid ethyl ester

(DMABEE)의 검출량에 차이가 있었으며, Ffill과 Fflow에서 유의하게 높은 세포 독성이 나타났다. Ffill은 높은 굴곡 강도를 보였으며, 다른 복합 레진은 고강도 모드와 표준 모드로 중합했을 때의 유의한 차이를 보이지 않았다. 비커스 미세경도는 Pfill의 상부는 고강도 모드와 표준 모드에서 유의한 차이가 없었으나, Pfill의 하부와 다른 복합 레진의 상·하부에서는 고강도 모드보다 표준 모드로 중합했을 때 유의하게 높게 나타났다.

주요어 : 급속 고강도 광중합, 벌크필 복합 레진, 기체 크로마토그래피/질량 분석법, 세포독성, 굴곡강도

학 번 : 2021-22998

목 차

국문 초록
그림 목차
표 목차
1. 서론 1
2. 재료 및 방법 4
2.1. 시편 제작 4
2.2. 가스 크로마토그래피/질량 분석법 7
2.3. 세포독성평가 7
2.4. 3점 굽힘 시험 8
2.5. 비커스 미세경도 시험 9
3. 결과 10
4. 토의 30
5. 결론 34
참고 문헌 35
영문 초록

그림 목차

[그림 1] Flow chart 5
[그림 2] Detected amount of butylated hydroxytoluene 11
[그림 3] Detected amount of camphorquinone 12
[그림 4] Detected amount of DMABEE 13
[그림 5] Optical density of live/dead assay 15
[그림 6] Relative cell viability 16
[그림 7] Flexural strength of group V1 18
[그림 8] Flexural strength of group V2 19
[그림 9] Flexural strength of condensable composite 20
[그림 10] Flexural strength of flowable composite 21
[그림 11] Flexural strength of composite resins 22
[그림 12] Vickers microhardness of group V1 24
[그림 13] Vickers microhardness of group V2 25
[그림 14] Vickers microhardness of condensable compoiste 26
[그림 15] Vickers microhardness of flowable composite 27
[그림 16] Vickers microhardness of composite resins 28
[그림 17] Vickers hardness ratio 29

표 목차

[표 1] Type, manufacturer and composition of composite resin 6

1. 서 론

복합 레진 재료는 진보된 물성과 심미성으로 인해 치과 치료에서 널리 사용되고 있다. 임상적 장점, 물리적 및 화학적 특성, 생물학적 안정성 등으로 인해 신뢰할 수 있는 재료이다[1]. 이 재료는 보통 2mm 두께의 적층 기법을 사용하여 치아에 적용한다. 이 방법은 충분한 중합과 우수한 임상 결과를 나타낸다[2,3]. 그러나 이러한 적층 기법은 시간이 많이 소요되고, 층 사이에 기포가 형성될 수 있으며 습기에 의한 오염의 위험을 증가시킨다[4,5]. 이러한 단점으로 인해 '벌크필(Bulk-fill)'이라고 알려진 새로운 종류의 복합 레진이 개발되었으며 응축성과 유동성의 2가지 종류가 있다[6]. 이 벌크필 복합 레진의 장점은 4~5mm의 두께까지 중합이 되므로, 짧고 간편한 치료가 가능하다[7,8]. 2mm에서 4mm로의 중합 깊이를 증가시키기 위해서 재료의 조성이 변경하였다[9]. 광선을 깊이 침투시키기 위해 필러의 양을 감소시키거나, 큰 필러 입자를 도입하여 표면적을 감소시켜서 광선의 반사와 산란을 최소화했다[10,11]. 필러와 기질의 굴절률을 일치시켜서 광선 투과도를 높이기도 하며, 이것은 재료의 심미성에 영향을 준다.

최근에는 벌크필 복합 레진의 조성에 대해 다양한 수정을 하고 있다. 중합 스트레스를 감소시키기 위해 고분자량 단량체인 aromatic urethane dimethacrylate(AUDMA)와 높은 중합 스트레스에서 내부 분자 결합이 약해지는 첨가 분열 단량체(addition-fragmentation monomer, AFM) 등을 사용하고 있다. 이러한 단량체는 Filtek One Bulk Fill Restorative(3M ESPE, St. Paul, MN, USA)에 첨가하였다. 또한, 유동형 벌크필 복합 레진인 SureFil SDR(Dentsply, Konstanz, Germany) 및 그 후속 제품인 SureFil SDR Flow Plus(Dentsply, Konstanz, Germany)은 수정한 UDMA를 첨가하여 중합 스트레스를 감소시켰다[11]. 임상 술식의 단순화와 효율성을 더욱 제고하기 위해 기존 벌크필 복합 레진의 조성을

변경하여, 고강도 광량인 3000mW/cm^2 이상 강도의 광중합기로 3초만에 중합이 가능한 벌크필 복합 레진도 출시되었다. 이러한 개념의 Tetric PowerFill(Ivoclar Vivadent, Schaan, Liechtenstein)은 유기 기질에 β-allyl sulfone 화합물을 포함하였으며, 이로써 addition-fragmentation chain transfer(AFCT)가 일어나도록 한다[12,13]. 고분자 사슬이 무분별하게 성장하지 않고 단계적으로 중합이 이루어져서 고분자가 단순한 사슬로 구성되어 중합이 더 균일하게 일어난다. 따라서 급속 고강도 중합의 부정적인 영향을 최소화할 수 있다[14].

급속 중합은 물질을 중합하는 데에 필요한 빛의 강도가 증가하면 시간이 감소할 수 있다는 상반 법칙(reciprocity law)에 기반을 둔다[15]. 총 광량이 일정하다면 빛의 조도와 조사 시간은 반비례한다[16]. 이 급속 중합의 개념은 플라즈마 아크 광중합기가 출시되었던 1980년대에 대두되었지만, 높은 가격과 불편한 조작법 때문에 임상가들에게 잘 받아들여지지 않았다[17]. 그러다가 최근의 LED (light emitting diode) 기술의 발전으로 보다 고강도 출력의 광중합기가 출시되고 있다. 필러 함량이 50wt% 이상인 복합 레진의 경우, 최소한의 광조사량이 주어지면 상반 법칙이 중합도에 대해 유효하다는 것을 경험적으로 입증되기도 했지만[15], 다른 연구에서는 상반 법칙의 효과가 제한적이라고 보고하였다[18]. 복합 레진의 단량체와 필러의 종류 및 구성, 광개시제의 종류와 농도, 광중합기의 파장 등 여러 요인에 영향을 받으므로 임상적 효용성에 대한 근거가 부족하다. 따라서 현재까지는 약 1000mW/cm^2 정도 출력에 의한 광중합 방식이 보편적으로 사용되고 있으며, '고강도'라는 용어는 2000 mW/cm^2 이상의 출력을 의미한다.

고강도의 광선이라는 의미는 더 많은 광자가 방출되는 것이며 결국 동시에 더 많은 양의 광개시제가 활성화되어 다량의 자유 라디칼이 생성된다는 것이다. 고농도의 자유 라디칼은 서로 소멸되어 단량체의 추가적인 활성화와 라디칼 중합의 전파 가능성을 감소시킨

다. 제어되지 않은 자유 라디칼 중합은 다양한 체인 길이를 발생시키고 불량한 종단기를 가진 미반응 단량체를 생성할 수 있으며[19], 이러한 불완전한 변환은 생체 적합성 문제를 야기할 수 있다[20,21].

이번 연구의 목적은 급속 고강도 및 전통적인 중합 방식이 벌크필 복합 레진의 용출물, 세포독성, 굴곡강도에 미치는 영향을 비교하는 것이다. 여기에는 급속 고강도 광중합을 위해 특별히 설계된 2개의 벌크필 복합 레진도 포함하였다. 첫 번째 귀무 가설은 상기 속성에 대해서 경화 방식이 영향을 미치지 않는다는 것이다. 두 번째 귀무 가설은 이러한 속성에 있어서 재료 간에 유의한 차이가 없다는 것이다.

2. 재료 및 방법

2.1. 시편 제작

2종의 응축형 벌크필 복합 레진인 Filtek One Bulk Fill Restorative (Ffill), Tetric PowerFill (Pfill)와 3종의 유동형 벌크필 복합 레진인 SureFill SDR Plus (SDR, Dentsply, Konstanz, Germany), Filtek Fill and Core Flowable Restorative (Fflow, 3M ESPE), Tetric PowerFlow (Pflow, Ivoclar Vivadent)를 1종의 재래식 응축형 Tetric N-Ceram (TNC, Ivoclar Vivadent)과 비교 평가하였다.

막대형 시편(2×2×25mm)과 원기둥형 시편(Ø8×4mm)은 polytetrafluoroethylene(PTFE) 몰드를 이용하여 제작하였다. 유리 슬라이드 위에 셀룰로이드 필름을 놓은 다음 PTFE 몰드를 올리고, 그 내부에 각각의 복합 레진을 충전한 후, 다시 셀룰로이드 필름을 덮어서 산소억제층을 최소화하였다. 시편은 여섯 개의 하위 군으로 나누었으며, 실험의 흐름도는 그림 1에 나타내었다.

무선 LED 광중합기(Valo, Ultradent, South Jordan, UT, USA)를 사용하여 한 군은 고강도 모드(V1군: 3200mW/cm^2, 3초)로, 다른 한 군은 표준 모드(V2군: 1000mW/cm^2, 20초)로 중합하였다. 광중합기의 팁은 시편 상부에 수직으로 밀착하여 위치시켜서 중합하였으며, 중합 후 여분의 복합 레진은 스칼펠로 제거하였다. 여섯 개 하위 군의 상세 특성은 표 1에 나타내었다(그림1). 응축형 벌크필 복합 레진 2가지, 유동형 벌크필 복합 레진 3가지, 응축형 재래식 복합 레진 1가지를 사용하였다.

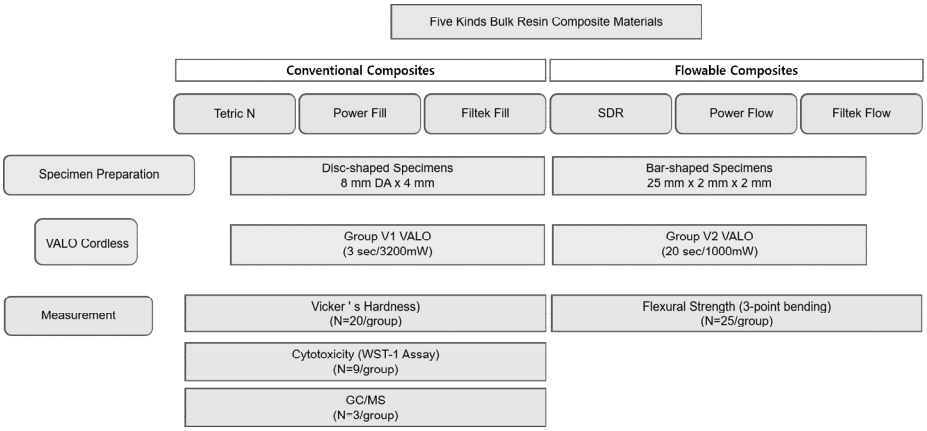

그림 1. Flow chart.

표 1. Type, composition, and manufacturer of composite resin

종류	재료(약어)	기질	제조사
condensable bulk-fill composite resin	Filtek One Bulk Fill Restorative (Ffill)	UDMA, AUDMA, DDDMA, AFM	3M ESPE, St. Paul, MN, USA
	Tetric PowerFill (Pfill)	Bis-GMA, Bis-EMA, UDMA, Bis-PMA, DCP, DDDMA	Ivoclar Vivadent, Schaan, Liechtenstein
flowable bulk-fill composite resin	Filtek Fill and Core Flowable Restorative (Fflow)	Bis-GMA, UDMA, Bis-EMA, Procrylat resin	3M ESPE
	Tetric PowerFlow (Pflow)	Bis-GMA, Bis-EMA, UDMA,	Ivoclar Vivadent
	SureFil SDR Flow Plus (SDR)	UDMA, TEGDMA, EBPDMA	Dentsply, Konstanz, Germany
condensable conventional composite resin	Tetric N-Ceram (TNC)	Bis-GMA, UDMA, TEGDMA, Bis-EMA	Ivoclar Vivadent

UDMA: urethane dimethacrylate AUDMA: aromatic urethane dimethacrylate; DDDMA: 1,10-decanediol dimethacrylate; AFM: addition-fragmentation monomer; Bis-GMA: bisphenol A-glycidyl methacrylate; Bis-EMA: bisphenol A diglycidyl methacrylate ethoxylated; DCP: dicumyl peroxide; Bis-PMA: 2,2-bis-(4-(3-methacryloxypropoxy)phenyl)propane; TEGMDA: Triethylene glycol dimethacrylate; EBPDMA: EthoxylatedBisphenol-A Dimethacrylate

2.2. 가스 크로마토그래피/질량 분석법

원기둥형 시편을 99.9% 메탄올(Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)에 넣고 항온항습기를 이용하여 37℃에서 갈색 유리병(3 cm^2/mL)에서 24시간 동안 용출하였다. 용출물을 분석하기 위해 Trace Ultra GC Ultra gas chromatograph(GC)를 삼중 사분극질량분석기(MS; TSQ 8000; Thermo Fisher Scientific, Madison, WI, USA)에 연결시켰다. 화합물은 GC column을 사용하여 분리하였으며, 이것은 길이 60m, 지름 0.25mm 및 필름 두께 0.25μm였고 1:10 분할비의 정지상과 헬륨이 일정한 속도로 1mL/min 유속으로 흐르는 상태였다. GC 오븐은 50℃에서 2분 동안 가열하였으며, 280℃(25℃/분)로 가열된 후 5분 동안 유지되었고, 그 후 250 ℃로 냉각하였다. 전자 이온화원 온도가 240℃인 상태에서 MS는 풀 스캔 모드로 설정하였으며, 데이터는 70eV에서 질량/전하비율(m/z 50-600)로 기록하였다. 질적 분석을 위해 관련 화합물은 보존시간과 질량 스펙트럼을 해당 참조 표준 및 미국 국립 표준 기술 연구소(NIST) 라이브러리 데이터베이스와 비교하여 확인하였다. 양적 분석은 butylated hydroxytoluene (BHT), camphorquinone(CQ), 4-N,N dimethyl aminobenzoic acid ethyl ester (DMABEE)에 대해 수행하였다.

2.3 세포독성평가

인간 치은 섬유아세포주(HGF-1, human gingival fibroblast cell line; ATCC CRL-2014)는 1% 페니실린(Gibco, Life Technologies, Grand Island, NY, USA), 1% 스트렙토마이신(Gibco) 및 10% 소태아혈청(fetal bovine serum, FBS; Gibco)이 포함된 Dulbecco's modified Eagle's medium(DMEM; Hyclone, Logan, UT, USA)에서 37℃, 5% CO_2로 습윤 챔버에서 배양하였다. 세포는 100mm 배양 접시(SPL Life Sciences, Yeoju-si, Gyeonggi-do, Korea)에 파종하여 80%

밀집도에 도달한 후 평가하였다.

세포 증식을 위한 복합 레진 용출물을 준비하기 위해, 원기둥형 시편(3cm^2/mL, ISO 10993-23:2021)을 DMEM에 담그고 24시간 동안 어두운 곳에서 보관 후 여과(0.22μm membrane filter unit, Corning Glass Works, Corning, NY, USA)하였다. 100% 농도의 복합 레진 추출물을 분석에 사용하였다. 세포들은 1×10^4 cells/mL 농도로 48구 조직배양판(SPL, Yeoju-si, Gyeonggi-do, Korea)에 분주하였으며, 24시간 동안 배양하였다. 또한, 세포에 0.35mL의 100% 복합 레진 추출물을 처리한 후 1, 3, 7일 동안 배양하였다. 배지는 3일마다 교체하였다.

WST-1(water-soluble tetrazolium salt)분석을 위해 EZ-Cytox 세포 생존도 검사 키트(DoGen Bio, Seoul, Korea)를 사용하였다. 광학밀도(OD, optical density)는 마이크로플레이트 리더(Allsheng AMR-100, Hangzhou, Zhejiang Province, China)를 사용하여 450nm에서 측정하였다. 상대적인 세포 생존도는 실험군의 OD와 NC(negative control)의 OD의 비율로 계산하였으며, 실험은 각각 3회씩 3회 반복(n = 9)하여 수행하였다.

2.4. 3점 굽힘 시험

국제 표준화 기구(ISO, International Organization for Standardization) 10477:2018 표준에 따라 제작된 25×2×2mm 크기의 막대형 시편을 이용하였다. 시편 제작 후 시편을 증류수에 담가서 37℃의 어두운 곳에 24시간 동안 보관하였다. 3점 굽힘 시험은 범용 시험 기계(Universal Testing Machine, TW-D102, Taewon Tech, Bucheon-si, Gyeonggi-do, Korea)로 수행하였으며, 하중은 1mm/min의 일정한 크로스헤드 속도로 파단될 때까지 가하였다. 최대 하중(F)이 측정되었고, 굴곡 강도(σ)는 다음 공식을 사용하여 MPa로 계산하였다:

$$\text{Flexural strength } (\sigma) = \frac{3FL}{2bd^{2}}$$

여기에서 F (N)는 파단 시의 축력하중, L (mm)은 수직 지지스팬의 길이(20mm), b (mm)는 너비, 그리고 d (mm)는 시편의 두께이다.

2.5. 비커스 미세경도 시험

원기둥형 시편은 실리콘 카바이드 사포(240, 360 및 1200 입도)로 상·하부면을 연마하였다. 제작한 시편을 증류수에 담가서 37 ℃의 어두운 곳에 24시간 동안 보관하였다. 미세경도 측정은 비커스 미세경도 시험장치(HMV-220B; Mitutoyo, Kanagawa, Japan)를 사용하여 수행하였다. 시편에 200 g중의 힘을 15초 동안 가하였다. 각 시편의 서로 다른 영역에서 5회 측정을 수행하고, 미세경도 측정기는 경도 표준을 사용하여 매 측정 전에 보정하였다. 평균 비커스 경도 비율(Vickers hardness ratio, VHR)는 상부와 하부면의 비커스 경도 숫자(Vickers hardness number, VHN)의 각각 평균을 구한 후 다음 공식에 따라 계산하였다:

VHR = (하부 VHN 평균값/ 상부 VHN 평균값) × 100%

2.6. 통계 분석

통계적 유의성은 일원배치 분산분석(one-way ANOVA)을 통해 평가하였으며, 이후에 Bonferroni 다중 비교 검정을 실시했다. 자료는 SPSS 25.0 (IBM, Chicago, IL, USA)를 사용하여 분석하였다. ($P < 0.05$)

3. 결 과

3.1. 용출 단량체 분석

가스 크로마토그래피/질량 분석법으로 분석한 복합 레진의 각각의 군에서 BHT의 양은 그림 2에 나와 있다. SDR과 Fflow, Ffill이 유의하게 검출량이 높게 나타났으며, SDR과 Fflow, Ffill 모두 20초 중합 시보다 3초 중합에서 검출량이 많았다. 복합 레진의 각각의 군에서 CQ의 검출량은 그림 3과 같으며, TNC3, TNC20에서 유의하게 높게 나타났다. 그림 4는 복합 레진의 각각의 군에서 DMABEE의 검출량을 나타내며, 모든 복합 레진에서 표준 모드보다 고강도 모드에서 높게 나타났다.

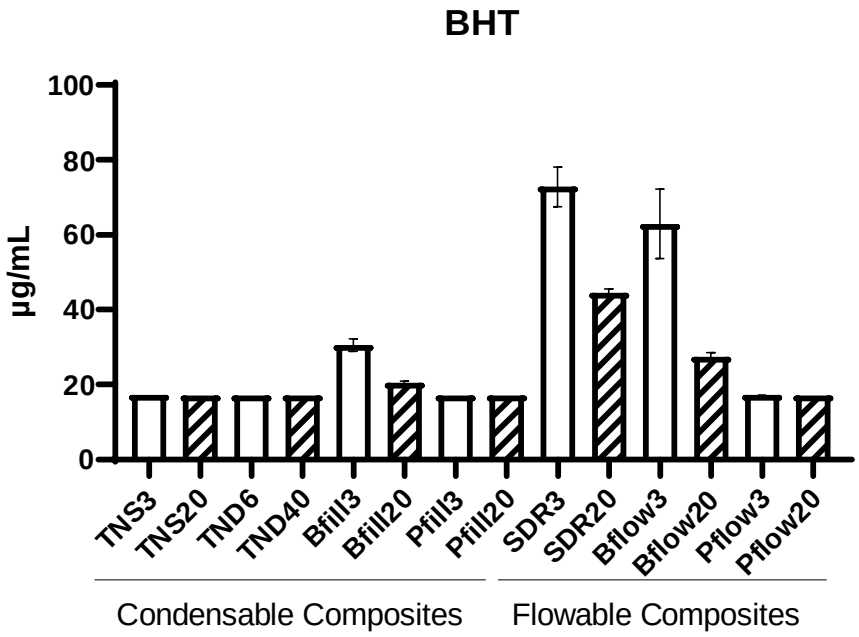

그림 2. Quantitative analysis of butylated hydroxytoluene.

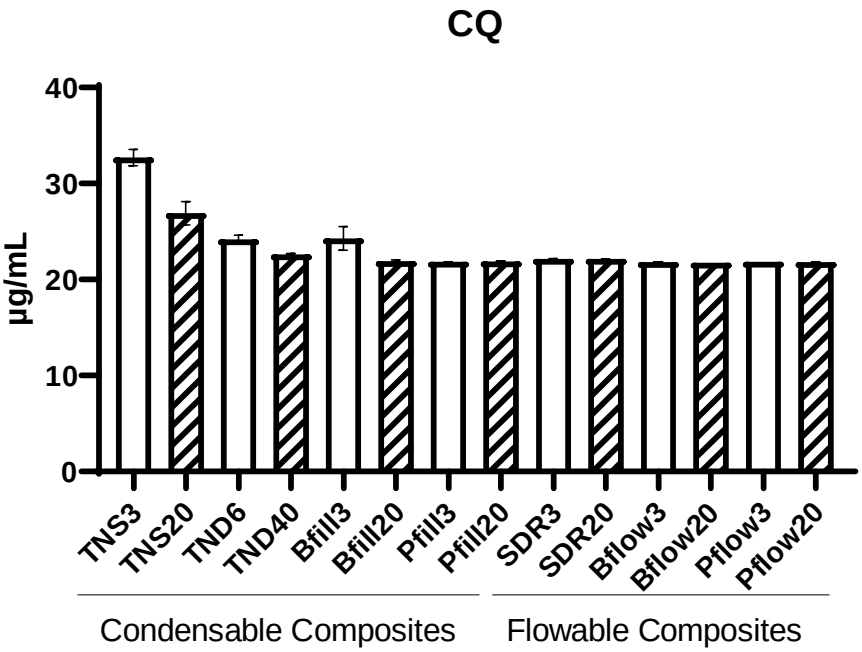

그림 3. Quantitative analysis of camphorquinone.

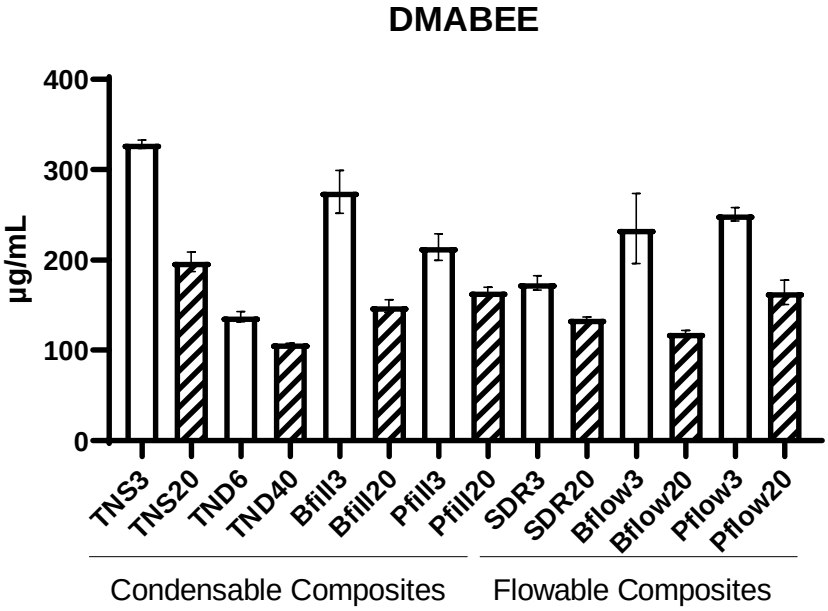

그림 4. Quantitative analysis of DMABEE.

3.2. 세포독성 평가

WST-1 분석에서 대조군은 세포배양접시에 배양한 세포의 OD를 기준으로 하였다. OD가 높을수록 세포독성이 낮음을 의미한다. Ffill과 Fflow는 유의하게 낮은 광학 밀도를 보였다(그림 5). 상대적 세포 생존율은 모든 복합 레진에서 ISO에서 제시한 최소 세포 생존율인 70% 보다 높은 수치를 보였다. 그러나 Ffill과 Fflow에서는 다른 복합 레진에 비해 유의하게 낮은 세포생존율이 나타났다(그림 6).

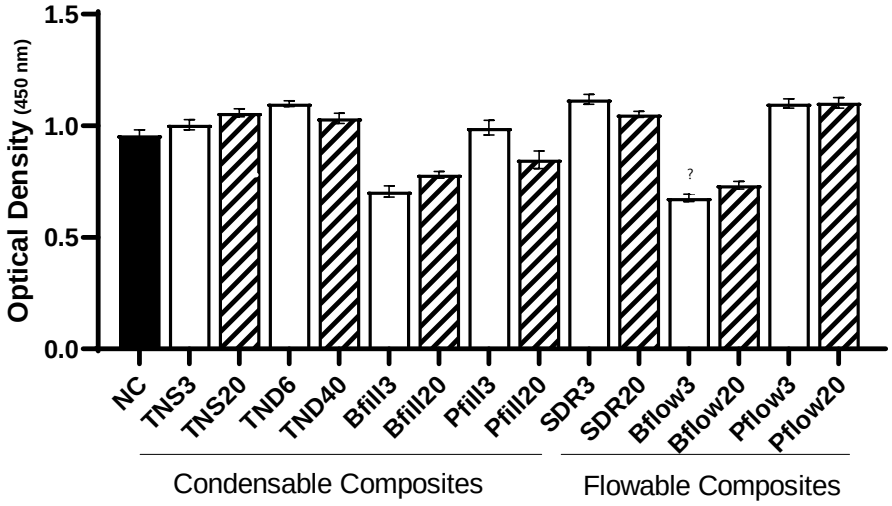

그림 5. Cell viability assay.

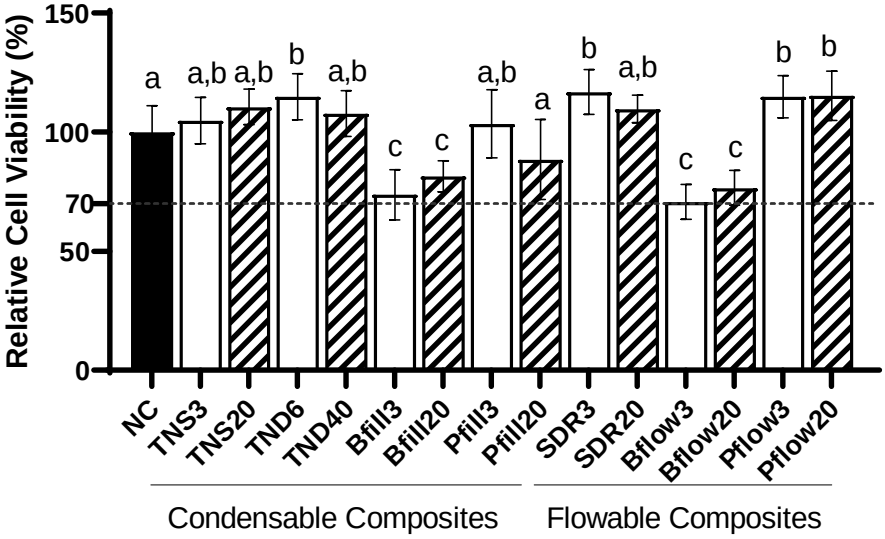

그림 6. Relative cell viability.

3.3. 굴곡 강도

굴곡 강도는 급속 고강도 모드와 표준 모드 모두에서 Ffill이 가장 높은 값을 나타냈다(그림 7,8). 각 복합 레진마다 급속 고강도 모드와 표준 모드의 유의한 차이는 관찰되지 않았다(그림 9,10).

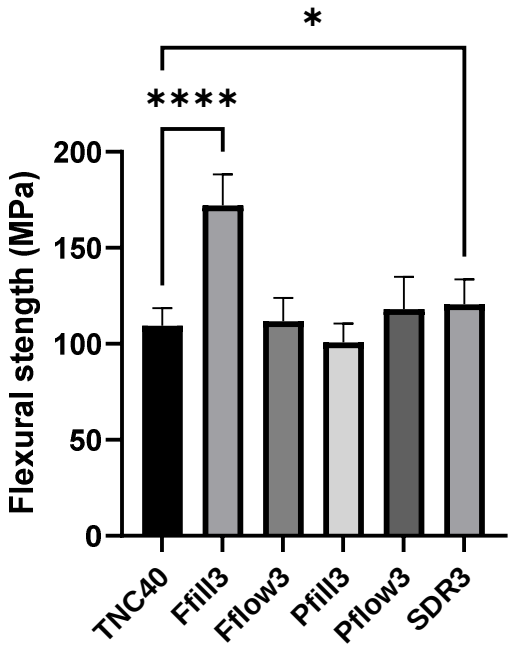

그림 7. Flexural strength of group V1.

V1에서 TNC40에 비해 SDR3과 Ffill3에서 유의하게 높은 굴곡강도가 관찰되었다. (*P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001, ****P<0.0001)

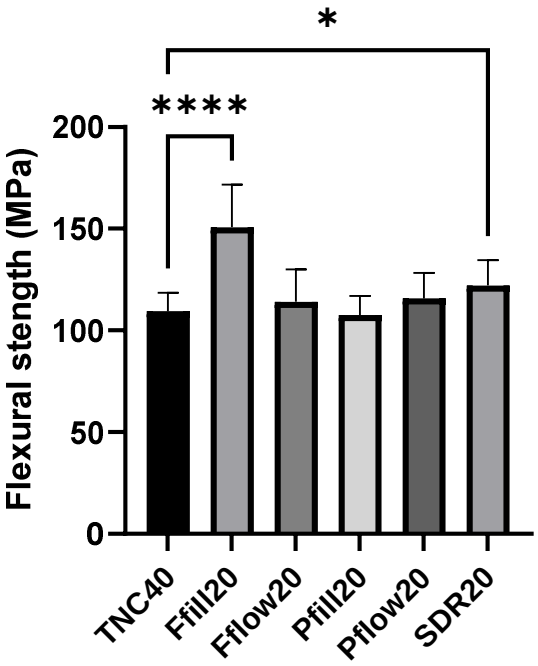

그림 8. Flexural strength of group V2.

V2에서 TNC40에 비해 Ffill20과 SDR20에서 유의하게 높은 굴곡강도가 관찰되었다. (*P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001, ****P<0.0001)

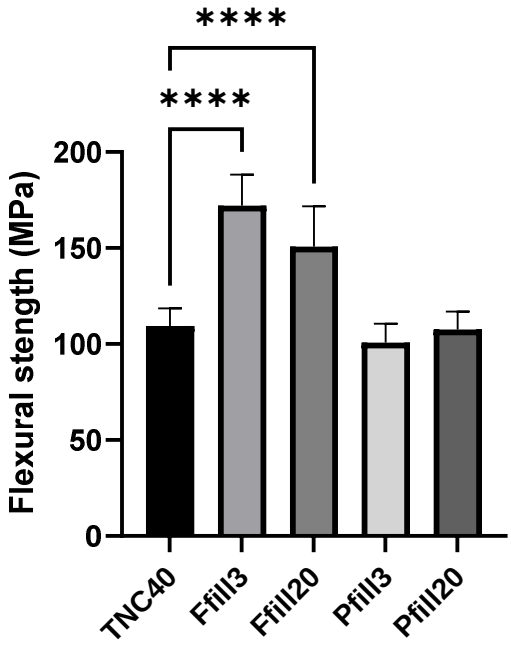

그림 9. Flexural strength of condensable composites.
응축형 복합 레진에서 TNC40에 비해 Ffill3과 Ffill20에서 유의하게 높은 굴곡강도가 관찰되었다. (*P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001, ****P<0.0001)

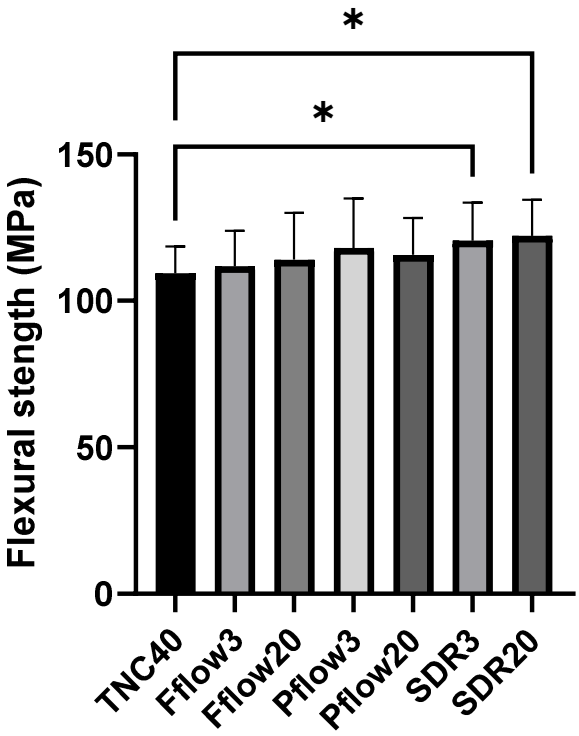

그림 10. Flexural strength of flowable composites.
유동형 복합 레진에서 TNC40에 비해 SDR3과 SDR20에서 유의하게 높은 굴곡강도가 관찰되었다. (*P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001, ****P<0.0001)

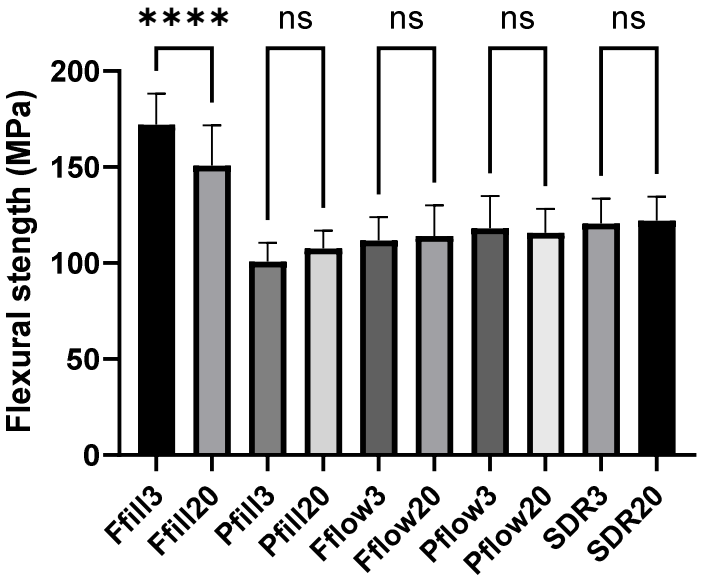

그림 11. Flexural strength of composite resins.

벌크필 복합 레진에서 Ffill3과 Ffill20은 유의한 굴곡강도의 차이가 관찰되었으며, 다른 복합 레진에서는 V1군과 V2군의 유의한 차이가 관찰되지 않았다. (*P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001, ****P<0.0001)

3.4. 비커스 미세 경도

응축형 레진에서는 Ffill20이 가장 높았으며(그림11), 급속 고강도 모드에서는 벌크필 충전형 모두에서 상부와 하부의 미세경도 차의가 유의하게 낮았다(그림 13). 유동형 레진에서는 TNC40에 비해 모든 실험군에서 유의하게 낮은 표면 경도를 보였다(그림 12). 상부와 하부의 미세경도 차이는 SDR3에서는 거의 없었으며 Fflow3에서는 유의하게 낮게 나타났다. SDR3을 제외하고는 상부와 하부의 미세경도 차이가 유의하게 나타나는 것으로 관찰되었다.

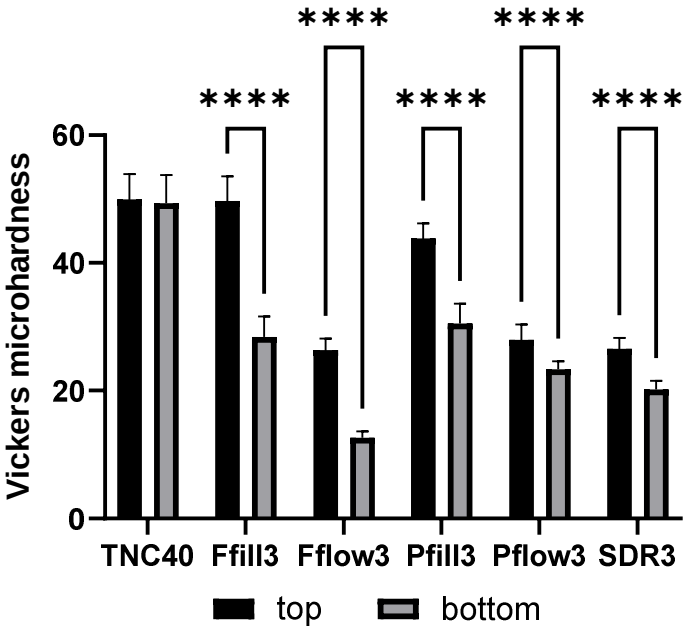

그림 12. Vickers microhardness of group V1 (high power mode).

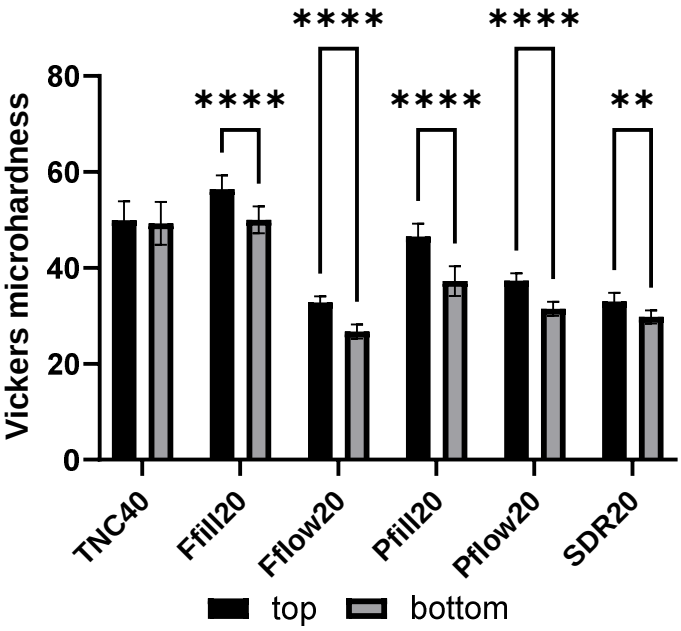

그림 13. Vickers microhardness of group V2 (standard mode).

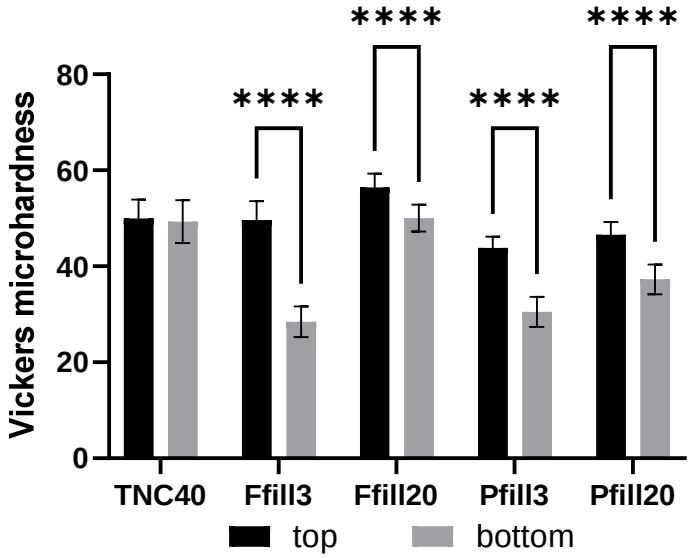

그림 14. Vickers microhardness of condensable composites.

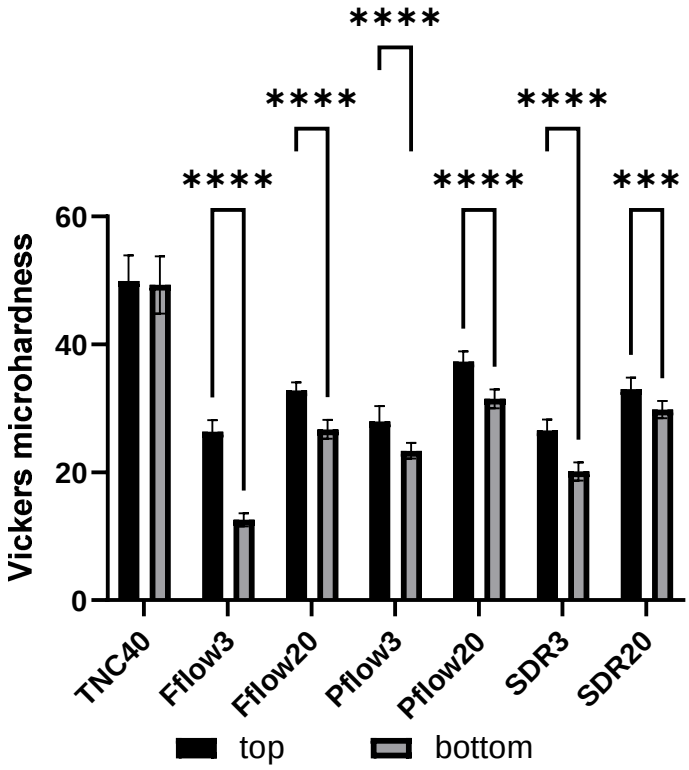

그림 15. Vickers microhardness of flowable composites.

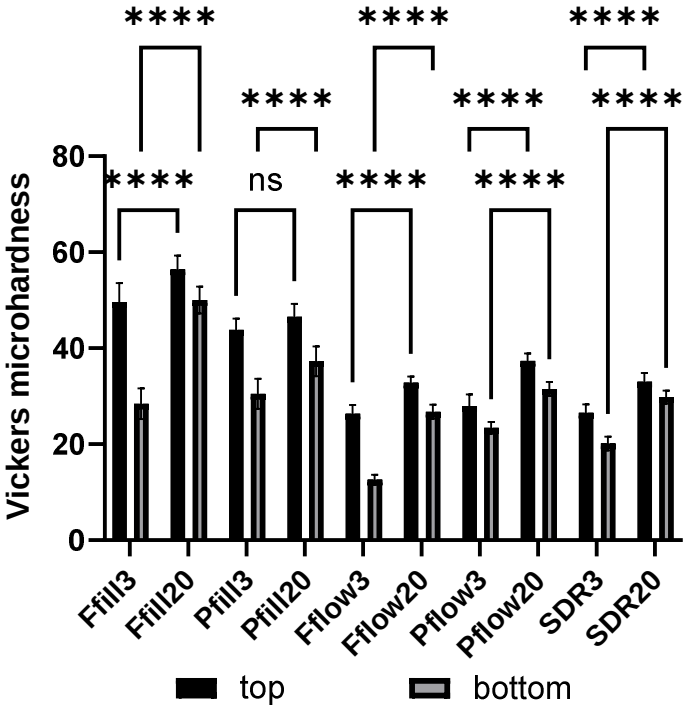

그림16. Vickers microhardness of composite resins.
Pfill의 상부를 제외하고 모든 복합 레진에서 V1군과 V2군을 비교했을 때 상부와 하부에서 모두 유의한 차이가 관찰되었다.
(*P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001, ****P<0.0001)

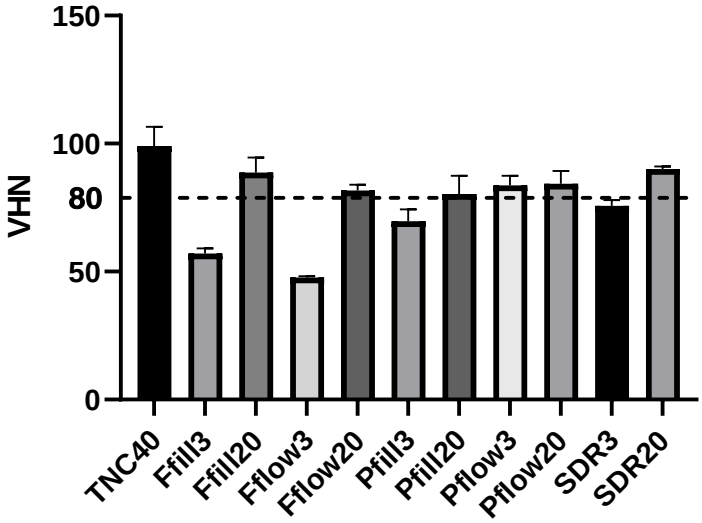

그림 17. Vickers hardness ratio.

TNC40, Ffill20, Fflow20, Pfill20, Pflow3, Pflow20, SDR20에서 80% 이상의 VHR이 관찰되었다.

4. 토 의

본 연구는 급속 고강도 모드와 표준 모드로 중합했을 때 벌크필 복합 레진의 용출물과 세포독성, 굴곡강도, 표면경도를 비교하여 평가하는 것이었다. 용출물과 세포독성, 굴곡강도는 재료에 따른 차이가 있었으며, 표면경도는 중합 모드에 따른 차이가 있었다. 따라서 두 개의 귀무가설은 기각되었다. 광조사의 조도와 노출 시간은 독립적으로 벌크필 복합 레진의 중합도와 중합 깊이에 영향을 줄 수 있다고 하였고[22], 표면 경도와 중합 깊이 그리고 중합 효율에 있어서 상반 법칙의 효과는 제한적이지만 재료에 따른 차이가 존재한다고 하였다[18,23].

복합 레진은 단량체-중합체 전환 정도가 약 35%에서 77% 사이로 다양하게 나타나며[24,25], 불완전 중합으로 인해 미중합된 단량체가 구강 내에 유리될 가능성이 존재한다. 또한 복합 레진에는 안정제, 중합개시제 등과 같은 기타 첨가물 성분이 포함되어 있다. 이러한 성분의 누출은 재료의 구조적 안정성과 생체 적합성에 잠재적인 악영향을 미칠 수 있다. 이 성분들은 치수 방향으로 확산되거나 타액에 용출되어 점막 조직과 접촉될 수 있다[26].

BHT는 치과 수복 재료에서 항산화 첨가제로 널리 사용되는데 자유 라디칼을 소비함으로써 과립화 억제를 통해 저장 중에 안정성을 유지한다[27]. BHT는 알레르기 비염 및 천식과 같은 알레르기 질환에 영향을 줄 수 있다[28]. SDR은 다른 중간 이장재보다 BHT가 더 많이 검출되며, 약간의 CQ와 동반되어 DMABEE가 함께 검출되었는데 이전의 다른 연구과 유사한 결과이다[29]. DMABEE는 강력한 지방친화성인 화합물이며, 복합 레진의 공개시제로 사용된다. 이것은 세포막에 축적되거나 세포막을 손상시킬 수 있다[30,31]. Camphorquinone은 광개시제로서 산화 스트레스와 DNA 손상을 일으킬 수 있고, 잠재적 알러지 유발

항원이다[32,33]. TNC에서 CQ와 DMABEE의 높은 용출량이 관찰된 것은 중합 깊이에 재래식 복합 레진으로써 중합 깊이 부족으로 중합도가 낮았기 때문인 것으로 보인다. 중합도와 미반응 단량체의 용출은 직접적인 관련이 있다[34].

MTT(3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) 분석와 더불어 WST-1 분석은 재료가 세포에 미치는 세포 독성 효과를 결정하기 위해 자주 사용되는 방법이다. 이 방법은 세포에 대한 독성이 적으며 수용성을 가져서 배양액으로 쉽게 확산된다. WST-1 분석은 배양 세포를 지속적으로 위험 상태에 두지 않으며, 확산 단계를 포함하지 않아 MTT보다 더 쉽게 적용할 수 있다[35,36]. 인간 치수 줄기 세포를 이용한 세포독성시험과 실시간 세포 분석을 이용한 세포독성연구에서는 Ffill이 SDR보다 낮은 독성을 나타내어 이번 연구와는 다른 결과를 보였다[37,38]. 쥐의 섬유아세포주를 이용하여 세포 현탁액으로 실험하였으며, 72시간 동안 실시간 세포 분석으로 세포독성 효과를 관찰했으므로 본 실험과 차이가 나타난 것으로 보인다.

레진에서 용출된 TEGDMA와 Bis-GMA와 같은 잔류 단량체는 인간 치은 세포에서 다양한 세포 독성 및 세포자연사(apoptosis)를 유발하는 것으로 나타났다[39]. 이러한 세포 독성과 세포자연사의 기전은 완전히 설명되지는 않았지만, 최근의 연구는 반응성 산소종(reactive oxygen species, ROS)과 글루타치온 고갈에 초점이 맞춰지고 있다[40,41,42]. ROS는 세포적인 산화환원 균형을 불안정하게 만들어 세포자연사에 의한 세포 사망을 유발하는 분자로 정의된다[41]. 이전 연구에서 TEGDMA, HEMA, Bis-GMA와 같은 단량체가 치관 세포에서 ROS 생성을 유발시킴을 보였다[42]. 따라서 이에 기반하여, 벌크필 복합 레진에서 유출된 단량체가 ROS 생성을 유발하여 세포 독성 및 세포자연사를 초래하는 것으로 볼 수 있다.

복합 레진의 특성을 조사하기 위해 굴곡 강도 측정을 널리

사용하며, 복합 레진이 파단되기 전까지 견딜 수 있는 최대 응력을 나타낸다. 굴곡 시험은 압축, 전단 및 인장 응력의 결합으로 복잡한 응력을 생성한다[43]. 이 특성은 여러 임상 상황에서 유용하다. I, II급 와동에서는 높은 굴곡 특성을 가진 복합 레진을 사용하여 강한 교합력 하에서 파괴나 변형을 최소화한다[44]. 일반적으로, 응축형 벌크필 복합 레진은 유동형 벌크필 및 재래식 복합 레진에 비해 뻣뻣하다. 이것은 응축형 벌크필 복합 레진의 더 높은 필러 함량과 관련된다[45]. 이번 연구에서는 응축형 벌크필 복합 레진인 Ffill은 높은 굴곡 강도를 보였으나, 역시 응축형 벌크필 복합 레진인 Pfill은 다른 유동형 벌크필 복합 레진과 유사한 결과를 나타냈다. 벌크필 복합 레진을 시효 처리 후 굴곡 특성을 시험한 연구에서는 Ffill, Pfill, SDR 순으로 굴곡 강도를 보여서 본 연구와 일치했다[46]. TNC은 비교적 낮은 굴곡 강도를 나타냈는데, 사전 중합된 입자를 포함하는 재료는 다른 재료들보다 비교적 낮은 굴곡 탄성률을 가지기 때문이다[47].

VHR 측정은 복합물의 중합 효율성을 판단하기 위해 사용되는 간접적인 방법이다[48,49]. 이 연구에서는 상부 VHN과 하부 VHN 값을 측정하였으며, 모든 재료에서 Ffill과 Fflow를 급속 고강도 모드로 중합한 군을 제외하고는 모든 하부/상부 비율이 0.8 정도로 4mm 두께에서 충분한 중합을 나타냈다. 중합 패턴의 차이와 사용된 광개시제 시스템이 기여한 것으로 보인다. 표준 모드로 중합한 모든 군에서도 VHR이 0.8 이상으로 충분한 중합을 보였다. SDR과 Pflow는 높은 VHR을 나타냈는데, SDR의 VHR이 낮았던 이전 연구와는 상반되는 결과이다[50]. 낮은 필러 함량이 광전도에 기여했을 것으로 생각된다.

Pfill과 Pflow는 급속 고강도 광중합을 위해 특별히 고안된 벌크필 복합 레진이다. β-allyl sulfone, PBPA, DCP이 특수하게 포함되는데 DCP는 고리 지방족 구조를 가지고 있으며[51], 이는 고분자 네트워크에 강도를 제공함으로써 기계적 특성을 개선하기

위한 것이다. AFCT인 β-allyl sulfone이 단량체를 생성함으로써 고분자 네트워크를 균일하게 만든다. 이 기작은 Pfill, Pflow를 고강도의 빛에너지(3000mW/cm^2 이상)로 단 3초 만에 중합할 수 있도록 하며, 반응도 및 기계적 특성에 대한 결과도 수용 가능한 수준을 보인다[51,52,53]. 이번 연구에서는 굴곡 강도, 표면 경도 면에서 다른 벌크필 복합 레진에 비해 유의한 차이를 보이지 않았다.

5. 결 론

본 연구에서는 벌크필 복합 레진을 급속 고강도 모드와 표준 모드로 광중합했을 때의 용출물과 세포독성, 굴곡강도, 표면경도를 평가하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 각 복합 레진에서의 DMABEE의 가스 크로마토그래피의 검출량에 유의한 차이가 있었다.
2. Ffill과 Fflow는 유의하게 높은 세포 독성이 나타났다.
3. Ffill은 높은 굴곡 강도를 보였으며, 다른 복합 레진은 고강도 모드와 표준 모드로 중합했을 때의 유의한 차이를 보이지 않았다.
4. 비커스 미세경도는 Pfill의 상부는 고강도 모드와 표준 모드에서 유의한 차이가 없었으나, Pfill의 하부와 다른 복합 레진의 상·하부에서는 고강도 모드보다 표준 모드로 중합했을 때 유의하게 높게 나타났다.

이 연구의 한계 내에서, 급속 고강도 중합 방식은 임상 상황에서 신중하게 사용되어야 한다.

임상적인 측면에서 더 유리한 특성을 얻기 위해서는 더 긴 조사 시간이 권장된다. 급속 고강도 광중합의 효과를 이해하고 복합 레진의 다양한 임상 상황을 시뮬레이션 하는 연구가 필요할 것이다.

참고 문헌

[1] Schmalz G. Materials science: biological aspects. *J Dent Res.* 2002;81:660-663.

[2] Cenci M, Demarco F, de Carvalho R. Class II composite resin restorations with two polymerization techniques: relationship between microtensile bond strength and marginal leakage. *J Dent.* 2005;33:603-610.

[3] Ikeda I, Otsuki M, Sadr A, Nomura T, Kishikawa R, Tagami J. Effect of filler content of flowable composites on resin-cavity interface. *Dent Mater J.* 2009;28:679-685.

[4] Ferracane JL. Buonocore lecture. Placing dental composites – a stressful experience. *Oper Dent.* 2008;33:247-257.

[5] Flury S, Hayoz S, Peutzfeldt A, Hüsler J, Lussi A. Depth of cure of resin composites: is the ISO 4049 method suitable for bulk fill materials? *Dent Mater.* 2012;28:521-528.

[6] Ilie N, Bucuta S, Draenert M. Bulk-fill resin-based composites: an in vitro assessment of their mechanical performance. *Oper Dent.* 2013;38:618-625.

[7] Haugen HJ, Marovic D, Par M, Thieu MKL, Reseland JE, Johnsen GF. Bulk Fill Composites Have Similar Performance to Conventional Dental Composites. *J Mol Sci.* 2020;21:5136.

[8] Marovic D, Taubock TT, Attin T, Panduric V, Tarle Z. Monomer conversion and shrinkage force kinetics of low-viscosity bulk-fill resin composites. *Acta Odontol Scand.* 2015;73:474-480.

[9] Czasch P, Ilie N. In vitro comparison of mechanical properties and degree of cure of bulk fill composites. *Clin Oral Investig.* 2013;17:227-235.

[10] Ilie N, Kessler A, Durner J. Influence of various irradiation processes on the mechanical properties and polymerisation kinetics of bulk-fill resin based composites. *J Dent.* 2013;41:695-702.

[11] Bucuta S, Ilie N. Light transmittance and micro-mechanical properties of bulk fill vs. conventional resin based composites. *Clin Oral Investig.* 2014;18:1991-2000.

[12] Gorsche C, Griesser M, Gescheidt G, Moszner N, Liska R. β-Allyl Sulfones as Addition–Fragmentation Chain Transfer Reagents: A Tool for Adjusting Thermal and Mechanical Properties of Dimethacrylate Networks. *Macromolecules.* 2014;47:7327-7336.

[13] Gorsche C, Koch T, Moszner N, Liska R. Exploring the benefits of β-allyl sulfones for more homogeneous dimethacrylate photopolymer networks. *Polym Chem.* 2015;6:2038-2047.

[14] Soh MS, Yap AU. Influence of curing modes on crosslink density in polymer structures. *J Dent.* 2004;32:321-326.
[15] Palagummi SV, Hong T, Wang Z, Moon CK, Chiang MYM. Resin viscosity determines the condition for a valid exposure reciprocity law in dental composites. *Dent Mater.* 2020;36:310-319.
[16] Rueggeberg FA, Caughman WF, Curtis Jr JW. Effect of light intensity and exposure duration on cure of resin composite. *Oper Dent.* 1994;19:26-32.
[17] Rueggeberg FA. State-of-the-art: dental photocuring—a review. *Dent Mater.* 2011;27:39-52.
[18] Sadeghyar A, Watts DC, Schedle A. Limited reciprocity in curing efficiency of bulk-fill resin-composites. *Dent Mater.* 2020;36:997-1008.
[19] Moad CL, Moad G. Fundamentals of reversible addition–fragmentation chain transfer (RAFT). *Chem Teach Int.* 2021;3:3-17.
[20] Lempel E, Czibulya Zs, Kovács B, Szalma J, Tóth Á, Kunsági-Máté S. Degree of conversion and BisGMA, TEGDMA, UDMA elution from flowable bulk fill composites. *Int J Mol Sci*. 2016;17:732.
[21] Lovász BV, Lempel E, Szalma J, Sétáló Gy Jr, Vecsernyés M, Berta G. Influence of TEGDMA monomer on MMP-2, MMP-8, and MMP-9 production and collagenase activity in pulp cells. *Clin Oral Investig*. 2021;25:2269-2279.
[22] Daugherty MM, Lien W, Mansell MR, Risk DL, Savett DA, Vandewalle KS. Effect of high-intensity curing lights on the polymerization of bulk-fill composites. *Dent Mater*. 2018;34:1531-1541.
[23] Diab RA, Yap AU, Gonzalez MAG, Yahya NA. Impact of light-curing distance on the effectiveness of cure of bulk-fill resin-based composites. *Saudi Dent J*. 2021;33:1184-1189.
[24] Chung K, Greener E. Degree of conversion of seven light cured posterior composites. *J Oral Rehabil*. 1988;15:555-562.
[25] Ferracane J, Condon J. Rate of elution of leachable components from composite. *Dent Mater*. 1990;6:282-287.
[26] Ferracane J. Elution of Leachable Components from Composites. *J Oral Rehabil*. 1994;2:441-452.
[27] Michelsen VB, Lygre H, Skålevik R, Tveit AB, Solheim E. Identification of organic eluates from four polymer-based dental filling materials. *Eur J Oral Sci*. 2003;111:263-271.
[28] Yamaki K, Taneda S, Yanagisawa R, Inoue KI, Takano H, Yoshino S. Enhancement of allergic responses in vivo and in vitro by butylated hydroxytoluene. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2007;223:164-72.
[29] Vouzara T, Roussou K, Nikolaidis AK, Tolidis K, Koulaouzidou EA.

Organic Eluates Derived from Intermediate Restorative Dental Materials. *Molecules*. 2020;25(7):1593.
[30] Sikkema J, de Bont J, Poolman B. Interaction of cyclic hydrocarbons with biological membranes. *J Biol Chem*. 1994;269:8022-8028.
[31] Sletten G, Dahl J. Cytotoxic effects of extracts of compomers. *Acta Odontol Scand*. 1999;57:316-322.
[32] Volk J, Ziemann C, Leyhausen G, Geurtsen W. Non-irradiated campherquinone induces DNA damage in human gingival fibroblasts. *Dent Mater.* 2009;25(12):1556-1563.
[33] Malanin K. Active sensitization to camphoroquinone and double active sensitization to acrylics with long-lasting patch test reactions. *Contact Dermatitis.* 1993;29(5):284-285.
[34] Lempel E, Czibulya Z, Kunsági-Máté S, Szalma J, Sümegi B, Böddi K. Quantification of Conversion Degree and Monomer Elution from Dental Composite Using HPLC and Micro-Raman Spectroscopy. *Chromatographia.* 2014;77:1137-1144.
[35] Karaöz E, Demircan PC, Sağlam O, Aksoy A, Kaymaz F, Duruksu G. Human dental pulp stem cells demonstrate better neural and epithelial stem cell properties than bone marrow-derived mesenchymal stem cells. *Histochem Cell Biol*. 2011;136:455-473.
[36] Galluzzi L, Aaronson SA, Abrams J, Alnemri ES, Andrews DW, Baehrecke EH. Guidelines for the use and interpretation of assays for monitoring cell death in higher eukaryotes. *Cell Death Differ*. 2009;16:1093-1107.
[37] Şişman R, Aksoy A, Yalçın M, Karaöz E. Cytotoxic effects of bulk fill composite resins on human dental pulp stem cells. *J Oral Sci*. 2016;58:299-305.
[38] Demirel G, Gür G, Demirsoy FF, Altuntaş EG, Yener-Ilce B, Kiliçarslan MA. Cytotoxic effects of contemporary bulk-fill dental composites: A real-time cell analysis. *Dent Mater J*. 2020;39(1):101-110.
[39] Chang HH, Guo MK, Kasten FH, Chang MC, Huang GF, Wang YL. Stimulation of glutathione depletion, ROS production and cell cycle arrest of dental pulp cells and gingival epithelial cells by HEMA. *Biomaterials*. 2005;26:745-753.
[40] Gronthos S, Brahim J, Li W, Fisher LW, Cherman N, Boyde A. Stem cell properties of human dental pulp stem cells. *J Dent Res*. 2002;81:531-535.
[41] Chang MC, Lin LD, Chan CP, Chang HH, Chen LI, Lin HJ. The effect of BisGMA on cyclooxygenase-2 expression, PGE2 production and cytotoxicity via reactive oxygen species- and MEK/ERK-dependent and -independent

pathways. *Biomaterials.* 2009;30:4070-4077.
[42] Eckhardt A, Gerstmayr N, Hiller KA, Bolay C, Waha C, Spagnuolo G. TEGDMA-induced oxidative DNA damage and activation of ATM and MAP kinases. *Biomaterials.* 2009;30:2006-2014.
[43] Dos Santos SG, Moyses MR, Alcantara CEP, Ribeiro JCR, Ribeiro JGR. Flexural strength of a composite resin light cured with different exposure modes and immersed in ethanol or distilled water media. *J Conserv Dent*. 2012;15:333-336.
[44] Yap AU, Chandra S, Chung S, & Lim C. Changes in flexural properties of composite restoratives after aging in water. *Oper Dent*. 200;27:468-474.
[45] El-Safty S, Akhtar R, Silikas N, Watts DC. Nanomechanical properties of dental resin-composites. *Dent Mater*. 2012;28:1292-1300.
[46] Marovic D, Par M, Macan M, Klarić N, Plazonić I, Tarle Z. Aging-Dependent Changes in Mechanical Properties of the New Generation of Bulk-Fill Composites. *Materials (Basel)*. 2022;15(3):902.
[47] Randolph LD, Palin WM, Leloup G, Leprince JG. Filler characteristics of modern dental resin composites and their influence on physico-mechanical properties. *Dent Mater*. 2016;32:1586-1599.
[48] Colombo M, Gallo S. New resin-based bulk-fill composites: in vitro evaluation of micro-hardness and depth of cure as infection risk indexes. *Materials*. 2020;13:6.
[49] Lima RBW, Troconis CCM, Moreno MBP, Murillo-Gómez F, de Goes MF. Depth of cure of bulk fill resin composites: a systematic review. *J Esthet Restor Dent*. 2018;30:492-501.
[50] Maghaireh GA, Price RB, Abdo N, Taha NA, Alzraikat H. Effect of Thickness on Light Transmission and Vickers Hardness of Five Bulk-fill Resin-based Composites Using Polywave and Single-peak Light-emitting Diode Curing Lights. *Oper Dent*. 2019;44(1):96-107.
[51] Marovic D, Par M, Crnadak A, et al. Rapid 3 s Curing: What Happens in Deep Layers of New Bulk-Fill Composites?. *Materials (Basel).* 2021;14(3):515.
[52] Graf N, Ilie N. Long-Term Stability of a RAFT-Modified Bulk-Fill Resin-Composite under Clinically Relevant Versus ISO-Curing Conditions. *Materials.* 2020;13:5350.
[53] Ilie N, Watts DC. Outcomes of ultra-fast (3 s) photo-cure in a RAFT-modified resin-composite. *Dent Mater*. 2020;36:570–579.

Abstract

Effect of rapid high-intensity light-curing on elution analysis, cytotoxicity, flexural strength and surface hardness of bulk-fill composites

Hye Jo Keum
Department of Dental Biomaterials Science
The Graduate School
Seoul National University
(Directed by Professor Shin Hye Chung)

1. Purpose: In this study, we evaluated the elution analysis, cytotoxicity, and flexural strength of several types of bulk-fill composite resins when polymerized using a rapid high-intensity light-curing mode and a standard mode.

2. Materials and Methods: Two condensable bulk-fill composite resins, Filtek One Bulk Fill Restorative (Ffill, 3M ESPE) and Tetric PowerFill (Pfill, Ivoclar vivadent), and three flowable bulk-fill composite resins, Filtek Fill and Core Flowable Restorative (Fflow, 3M ESPE), Tetric PowerFlow (Pflow, Ivoclar vivadent), and SureFill SDR Plus (SDR, Dentsply), were compared and evaluated against one conventional condensable resin, Tetric N-Ceram (TNC, Ivoclar vivadent). The

experimental group was polymerized using the high-power mode (V1: 3200mW/cm^2, 3 seconds) of the Valo light-curing unit (Ultradent), while the control group was polymerized using the standard mode (V2: 1000mW/cm^2, 20 seconds). Elution analysis was performed using gas chromatography/mass spectrometry, and cell toxicity was evaluated by eluting specimens into a culture medium. A three-point bending test was conducted to evaluate the flexural strength, and a Vickers microhardness test was used to assess the surface hardness and the ratio of hardness between the upper and lower surfaces of the specimens. Statistical significance was analyzed using ANOVA and Bonferroni post hoc tests ($\alpha = 0.05$).

3. Results: The elution analysis revealed differences in the detected amounts of DMABEE. Significant cytotoxicity was observed in the cell viability assessment for both Ffill and Fflow. Ffill exhibited high flexural strength, while other composite resins showed no significant difference between high-density mode and standard mode polymerization. Vickers microhardness showed no significant difference between high-power mode and standard mode in the upper portion of Pfill. However, in the lower portion of Pfill and in the upper and lower portions of other composite resins, it was significantly higher when polymerized in the standard mode compared to the high-power mode.

Keywords : rapid high-intensity light-curing, bulk-fill composite resin, gas chromatography/mass spectrometry, cytotoxicity, flexural strength
Student Number : 2021-22998