

인산용액의 농도 및 적용시간 차이에 따른 상아질 표면의 형태적 변화

전북대학교 치과대학 치과보존학교실 및 치의학연구소,
서울대학교 치과대학 치과보존학교실*

김명수 · 은영석 · 이광원 · 손호현*

Abstract

MORPHOLOGIC CHANGE OF DENTIN SURFACE ACCORDING TO THE DIFFERENCE IN CONCENTRATION AND APPLICATION TIME OF PHOSPHORIC ACID

Myeong-Su Kim, Young-Seok Ohn, Kwang-Won Lee, Ho-Hyun Son*

*Department of Conservative Dentistry, School of Dentistry, Chonbuk National University &
Institute of Dental Science, Seoul National University**

The depth and patterns of demineralization according to the difference in concentration and application time of phosphoric acid were observed through the transmission electron microscope, and shear bond strengths to the acid-conditioned dentin were then measured and compared with the TEM results. To investigate the influence of polymer addition into the phosphoric acid and the effect of difference in concentration and application time of the acid, the specimens were randomly divided into 9 groups. Among the specimens, the exposed dentin surfaces were acid-conditioned with 10% polymer-thickened phosphoric acid(All Bond 2, Bisco, U.S.A.) and aqueous 10%, 20%, 30%, 40% phosphoric acid for 20 seconds, The rest of the specimens were acid-conditioned with 10% phosphoric acid for 15s, 30s, 60s, 120s respectively. The specimens were immersed in 4% glutaraldehyde in 0.1M sodium cacodylate buffer and postfixed with 1% osmium tetroxide without decalcification and then observed under a JEOL Transmission Electron Microscope(JEM 1200 EX II, Japan). After the specimens were acid-conditioned as the above, primer and adhesive resin were applied to blot-dried dentin and shear bond strengths were then measured and analysed.

The results were as follows :

1. The intertubular demineralization depth of 4.0-5.0 μm in 10% polymer-thickened phosphoric acid gels was similar or slightly deeper than that of 4.0-4.5 μm in aqueous 10% phosphoric acid solution.
2. The intertubular demineralization depth of aqueous 20%, 30% and 40% phosphoric acid solution was 6.5-7.0 μm , 6.5-7.5 μm and 9.0-15.0 μm respectively. It showed that the depth of dentin demineralization is partly related to the concentration of phosphoric acid solution.
3. The intertubular demineralization depth of aqueous 10% phosphoric acid solution in application time for 15s, 30s, 60s and 120s was 2.5-3.0 μm , 4.0-6.0 μm , 6.5-7.0 μm and 8.5-14.0 μm respectively. It showed that the depth of dentin demineralization is directly related to the application time of phosphoric acid solution.
4. The partially demineralized dentin layer between demineralized collagen layer and unaffected dentin was showed to a width of 0.5-1.0 μm in lower concentration groups treated with aqueous 10% phosphoric acid for 20s, 60s, 120s and 20% phosphoric acid for 20s.
5. The demineralization effect at the border of intertubular-peritubular junction was less evident than that in the peritubular and intertubular dentin. The collagen fibers in the intertubular dentin had a random orientation, whereas those that lined the tubules were circumferentially aligned. The cross-linkage of dentinal collagen in demineralized collagen layer was clearly seen.
6. A statistically significant difference of bond strengths according to the difference in phosphoric acid concentration did not exist among the groups treated with 10%, 20%, 30% and 40% acid solution ($P>0.05$). However, bond strengths to the treated dentin with 10% phosphoric acid solution for 30s were significantly higher than that for 120s ($P<0.05$).

I. 서 론

복합레진 수복시 시술절차를 단순화하고 결합의 질을 증진시키기 위한 연구들이 보고되고 있다. 이러한 예들로 산처리제와 접착강화제를 하나의 용기에 합²⁾하거나 접착강화제와 접착레진을 하나로 합한 시도³⁾, 그리고 “total-etch”나 “wet-bonding”시술법⁴⁾을 들 수 있으며, 이러한 모든 연구들은 탈회 후 일어나는 교원섬유의 붕괴를 피하기 위한 시도임을 알 수 있다. 또한 상아질과 수복레진 사이에서 형성되는 하이브리드층의 두께에 대해서도 쉽게 가수분해되지 않는 강한 결합을 이루고 탈회된 상아질과 하이브리드층사이의 취약부위의 형성을 줄이기 위해서는 2 μm 이내가 되어야 하며, 강한 결합을 이루기 위해서는 위에서 언급한 하이브

리드층 형성뿐만 아니라 레진 tag와 더불어 레진이 침윤된 측지(lateral branch) 모두가 전체적으로 결합의 강도와 질을 평가하는 중요한 요소임을 강조하고 있다. 이는 상아질 산처리과정의 중요성을 지적한 내용으로 하이브리드층과 레진 tag 및 레진이 침윤된 측지의 형성에 탈회의 양상과 깊이가 직접적인 영향이 있음을 설명하고 있다⁶⁾.

산처리제는 도말층과 상아질의 표층을 제거하여 상아세관을 노출시키고 표층상아질을 탈회시키며, 관상상아질내 다공성을 증가시킨다⁷⁾. 이러한 산처리제의 상아질내 확산은 일차적으로 상아세관을 따라 일어나게 된다⁹⁾. 그러나 상아질에 대한 결합은 탈회가 되고 다공성이 증가된 관상상아질내로 친수성 레진성분이 침윤되어 형성된 미세기계적 결합이 근간을 이루며, Nakabayashi 등¹⁰⁾과 Van

Meerbeek 등¹¹⁾은 이러한 하이브리드층이 상아질내 교원섬유와 잔여 광물질 그리고 레진들이 망사형태로 서로 감겨져 형성되는 조직이라고 정의하였다.

이러한 상아질과 상아질접착제 사이의 미세기계적 결합에는 기질의 형태, 산처리제와 상아질접착제의 형태 그리고 산처리제의 적용시간과 같은 요소들이 관여된다²²⁾. 인산 용액은 1955년 Buonocore²³⁾가 법랑질 산부식을 위해 사용된 이후 최근에는 상아질의 표면처리에도 사용되고 있으며, Chiba 등¹⁴⁾과 Pashley 등¹⁵⁾은 상아질의 탈회 깊이가 인산용액의 농도에 비례하여 증가됨을 보고하였다. Ferrari 등⁶⁾은 Phenyl-P, HEMA, 5-NMSA 등이 함유된 self-etching primer를 30초간 적용한 실험군보다 60초간 적용한 실험군에서 적은 변연부 미세누출과 2~4 μ m 두께의 하이브리드층 형성, 깔대기 모양으로 형성된 레진 tag와 상아세관과의 긴밀한 접촉양상, 그리고 레진 tag와 레진이 침윤된 측지들이 연결된 모습들을 명확히 보여주었다고 하였다. 또한 법랑질에 대한 결합에 있어서도 비교적 높은 농도인 37% 인산용액과 60초의 적용시간을 통해 간극을 제거하고 변연부의 폐쇄효과를 높일 수 있었다고 하였다.

투과성있는 상아질 기질과 레진 단량체의 확산도가 하이브리드층을 형성하는데 필수적이며, 인산 용액이 상아질의 투과도를 증가시키는데 많이 사용되고 있다. Nakabayashi 등¹⁶⁾은 산처리제로서 인산용액을 사용하는 경우 농도의 차이가 탈회된 상아질의 투과도와 그에따른 결합강도에 영향을 주었다고 하였다. 그러나 인산용액으로 산처리된 시편들에서 형성된 하이브리드층은 명확하지 않았고, 긴밀하고도 내구성을 갖춘 모습이 결여되어 있었으며¹⁷⁾, 인장결합강도도 4.5~6.6 MPa 정도로서 미약하여 하이브리드층의 이상적 모습을 평할만한 충분한 수준에 이르지 못함을 지적하였다¹⁸⁾. 예로 35% 인산용액으로 산처리한 시편들의 결합강도를 측정된 뒤 파절된 시편의 관찰에서 낮은 결합강도와 함께 탈회된 상아질내에서의 응집성 파절빈도가 10%와 65% 인산용액으로 산처리된 시편들에 비해 높은 빈도로 나타났다고 하였으며, 이는 35% 인산용액의 해리정도가 10%나 65% 인산용액에 비해 높아 칼슘의 고갈정도가 크고 교원섬유

의 변성이 심하기 때문이라 하였다. 또한 10%나 65% 인산용액으로 산처리한 시편들에서 형성되어진 하이브리드층의 형태가 1% NaOCl용액에서의 침적시간을 30분에서 60분으로 높였을 때 완전히 사라짐으로써 이러한 시편들의 하이브리드층내에는 레진의 함량이 불충분함을 지적하였고 좋은 하이브리드층은 NaOCl용액에서의 오랜 침적시간에도 강한 저항성을 갖는 구조이어야 한다고 하였다. Watanabe 등¹⁹⁾과 Sano 등²⁰⁾은 하이브리드층 하방에 노출된 교원섬유들이 레진성분에 의해 침윤되지 못하고 남아있는 경우 쉽게 가수분해되어 결합의 내구성이 현저하게 짧아질 수 있다고 하였으며 이는 교원섬유 자체가 단백질로서 쉽게 가수분해되기 때문이라 하였다. Perdigao 등²¹⁾도 탈회된 상아질의 고배율 관찰에서 명확한 3층을 확인하였는데, 바깥 표층부에는 잔여 도말층과 변성된 교원섬유로 보여지는 구조물들을, 중간층에는 변성되지 않은 교원섬유들을 그리고 심층에서는 미세한 열공(hiatus) 주위로 산개되어 나타나는 광물질들과 무정형으로 배열된 교원섬유들을 보여주었다고 하였다. 특히 열공은 중간층과 건전 상아질(unaffected dentin) 사이를 분리하고 있으며 최근에 보고되고 있는 하이브리드층내의 기저부에서 발생하는 미세누출(nanoleakage)의 원인으로 생각하고 있다. 또한 이러한 미세 열공내로 접착레진이 침투되지 못하면 결합이 이 부위에서부터 점차 붕괴되어 진다고 하였다.

그러나 Suzuki 등²²⁾은 Bis-GMA나 친수성 단량체와 같은 레진 성분들은 그 크기가 탈회 후 상아질 표층에 형성된 다공들의 직경보다 작기 때문에 표층으로부터 6 μ m 이상 깊게 침투될 수 있고, 또한 Kanca²³⁾와 Gwinnett²⁴⁾는 인산 용액으로 산처리된 습윤 상아질에 HEMA와 BPDm과 같은 친수성 단량체를 적용시켜 높은 결합강도와 3~4 μ m의 깊고 명확한 하이브리드층 형성을 보고하였으며, 이는 접착강화제내에서 용매로 사용되는 아세톤이 교원섬유사이에 존재하는 수분을 대치한 뒤 함께 적용된 단량체들의 확산을 위한 통로로 제공되었기 때문이라고 하였다.

산처리제는 오랫동안 액체 형태로 사용되어 왔지만 근래에는 대부분 점도를 가지는 겔 형태를 상아질 및 법랑질에 적용하고 있다. 이는 대개 시술

시 조작을 원활하게 하기위함으로써 제조시 실리카(silica)나 중합체(polymer)와 같은 첨가제를 넣어 술자로 하여금 산처리제가 적용부위를 넘지 못하도록 조절할 수 있게 하여주고, 또한 산처리제의 위치를 육안으로 확인시켜 주는 장점들을 가지고 있다²⁶⁾. 임상적으로 탈회효과는 gas 발생에 의한 기포가 겔내에 많이 나타나는 상태로 확인되어진다. Kubo 등²⁶⁾과 Perdigao 등²⁷⁾은 실리카 미세입자가 첨가된 겔형태의 산처리제가 비교적 낮은 점도를 가지며 강한 세척 후에도 상아질 표면 위에 잔여물을 남기는 반면, 중합체가 첨가된 겔형태에서는 적용시 높은 점도를 가지고 세척 후에 깨끗한 표면을 보였다고 하였으며, 액상의 산처리제와 더불어 중합체가 첨가된 산처리제가 실리카가 함유된 산처리제보다 더 깊은 탈회깊이를 보인다고 하였다. 이는 산처리제내에 함유된 콜로이드 실리카가 비교적 큰 표면적을 가지기 때문에 수화층내에서 수소결합을 통해 산용액의 상당 량을 잡아들이므로 산에 대한 희석효과와 완충능력을 가지기 때문이며, 이에반해 폴리비닐 알코올과 같은 중합체들은 수소결합을 통해 상아질 표층에 선택적으로 흡착되지만 딱딱한 구조로 인한 낮은 유연성과 높은 분자량을 가져 수세시 효과적으로 제거되지 않음으로써 산에 의한 탈회의 정도와 깊이가 커진다고 하였다. Pashley 등²⁷⁾은 상아질의 산부식 결과로 변성된 교원섬유들과 잔여 도말 입자들이 상아질 표면위에 층을 이루어 하부 교원섬유층의 완전한 노출을 제한한다고 하였다. 이에대해 몇몇 산처리제내에 들어있는 실리카 성분들이 이와같은 표층 잔여층들의 형성을 부분적으로 막아준다고 주장하고 있지만 아직 검증된 보고는 찾아볼 수 없다. 또한 이러한 첨가제가 상아질의 투과도나 접착강화제의 침윤에 어떠한 영향을 미칠지에 대해서도 보고되지 않고 있으며, 더욱이 표면활성제(surfactants), 중합체(polymers), 비공개 변형체(proprietary modifiers)들과 같은 겔형태 산처리제내의 다른 성분들의 영향도 아직 완전하게 이해되지 못하고 있다. 이에 고유 산처리제에 의한 탈회깊이와 양상들을 관찰한 뒤 첨가제를 함유한 산처리제들의 관찰결과와 함께 비교하고 분석되어야 한다.

주사전자현미경은 최근까지 범랑질 접착과 상아

질 접착에 관한 연구에 광범위하게 사용되어 왔다^{10,12)}. 그러나 상아질 접착에 관한 연구는 근래에 들어 형태학적 구조들에 초점을 맞추어 연구되고 있으며, 특히 상아질의 탈회 깊이나 탈회 양상 및 상아질에 레진성분이 확산되어 형성된 확산접합층(resin-dentin interdiffusion)내 구조들을 고배율에서도 높은 해상력으로 분석하기위해 투과전자현미경^{11,28)}이나 Field Emission SEM²⁹⁾ 등을 사용하고 있다. 투과전자현미경 관찰을 위한 경조직 시편들은 초박 미세절편을 만들어내기 위해 부분적인 탈회 과정을 거친 뒤 에폭시 레진에 매몰하게 되므로 심부의 변성되지 않은 상아질로부터 수산화인회석 결정들과 기질들이 많은 부분 제거된다는 단점을 내포하고 있었다. 그러나 최근의 연구들에서는 탈회 과정을 거치지 않고 초박절편을 제작하여 염색한 뒤 레진-상아질간 하이브리드층내의 미세구조들을 관찰함으로써 위와같은 문제점을 해결하였다³⁰⁾. 이에 본 연구에서는 농도 및 적용시간의 차이를 갖는 인산용액들에 의해 탈회된 상아질의 탈회 깊이와 탈회 양상을 비탈회 초박절편을 제작한 후 투과전자현미경으로 관찰하고, 동일한 조건에서 전단결합강도를 측정하여 투과전자현미경 관찰결과와 비교하고 분석하여 다소의 지견을 얻었기 보고하는 바이다.

II. 실험재료 및 방법

1. 실험재료

우식증과 충진물이 없고 교모가 심하지 않으며 발거한 후 일주일일 경과되지 않은 98개의 대구치를 선택하여 치아표면에 부착된 유기잔사와 치석을 제거한 뒤 18개는 투과전자현미경 관찰을 위해, 나머지 80개는 전단결합강도 측정을 위한 실험 치아로 사용하였다. 상아질 표면처리를 위해 중합체가 함유된 10% 인산겔(All Bond 2, Bisco Inc., USA)과 85% 표준 인산용액(Junsei Chem. Co., Japan)으로부터 만들어진 10%, 20%, 30%, 40% 인산용액을 사용하였으며, 결합강도 측정을 위해 상아질을 표면처리한 후 All Bond 2내의 접착강화제와 접착레진 그리고 수복레진으로 Z-100(shade: A 3.5:3M Dent. Prod, USA)을 사용하였다.

Table 1. The treatment groups on exposed dentin surfaces used in the experiment

Differences in concentration	Differences in application time
Group 1 10% H3PO4(G), 20 seconds	Group 6 10% H3PO4(L), 15 seconds
Group 2 10% H3PO4(L), 20 seconds	Group 7 10% H3PO4(L), 30 seconds
Group 3 20% H3PO4(L), 20 seconds	Group 8 10% H3PO4(L), 60 seconds
Group 4 30% H3PO4(L), 20 seconds	Group 9 10% H3PO4(L), 120 seconds
Group 5 40% H3PO4(L), 20 seconds	

* (G:polymer-thickened gel etchant, L:liquid etchant)

2. 실험방법

가. 투과전자현미경 관찰을 위한 시편제작

직경 2.5cm, 높이 3.0cm의 테플론 몰드내에 치아를 교합면측이 상방으로 향하게 위치시킨 뒤 자가중합형 아크릴릭 레진을 일정 비율로 혼합하여 몰드내로 주입하였다. 상아질이 완전히 노출되고 주위 가장자리 부위에만 범랑질이 잔존되도록 교두정에서 2.5~3.0mm되는 부위에 diamond saw (Isomet, Buehler Co., USA)를 사용 주수하에서 절단하였다. 노출된 상아질 표면은 600grit의 연마지에 수분을 적셔 30초간 연마하고 실온의 물에 24시간 보관하여 치아가 충분히 수화될 수 있게 하였다. Isomet low-speed diamond saw를 사용하여 가로와 세로 방향에서 상아질을 1mm 간격으로 절단한 뒤 다시 하방 1~1.5mm 부위에서 몰드를 횡절단하여 시편을 1mm 크기의 입방체로 형성하였으며 만들어진 시편중 18개를 무작위로 선택하여 다음과 같이 9군으로 분류하였다(Table 1).

* 인산용액의 농도차이에 따른 실험군

실험 1군(대조군):상아질 표면을 오일이 함유되지 않은 압축 공기로 10초간 건조한 뒤 10% 인산겔 (All-Bond 2, Bisco, USA)을 상아질 표면에 20초간 적용하고 20초간 수세하였다.

실험 2군:상아질 표면을 오일이 함유되지 않은 압축공기로 10초간 건조한 뒤 10% 인산용액을 20초간 적용하고 20초간 수세하였다.

실험 3군:상아질 표면을 10초간 건조한 뒤 20% 인산용액을 20초간 적용하고 20초간 수세하였다.

실험 4군:상아질 표면을 10초간 건조한 뒤 30% 인산용액을 20초간 적용하고 20초간 수세하였다.

실험 5군:상아질 표면을 10초간 건조한 뒤 40%

인산용액을 20초간 적용하고 20초간 수세하였다.

* 10% 인산용액의 적용시간에 따른 실험군

실험 6군:상아질 표면을 10초간 건조한 뒤 10% 인산용액을 15초간 적용하고 20초간 수세하였다.

실험 7군:상아질 표면을 10초간 건조한 뒤 10% 인산용액을 30초간 적용하고 20초간 수세하였다.

실험 8군:상아질 표면을 10초간 건조한 뒤 10% 인산용액을 60초간 적용하고 20초간 수세하였다.

실험 9군:상아질 표면을 10초간 건조한 뒤 10% 인산용액을 120초간 적용하고 20초간 수세하였다.

경조직의 투과전자현미경 관찰을 위해 고안된 시편제작 방법에 따라 시편들을 0.05M cacodylate 완충용액이 함유된 4% glutaraldehyde 용액(pH 7.2)에 4°C에서 12시간 전고정한 후 탈회과정을 거치지 않고 0.1M cacodylate 완충용액으로 2시간 동안 수세하고 1% OsO₄ (osmium tetroxide)로 후고정한 다음 5% uranyl acetate 용액에서 12시간 동안 1차염색하였다. 고정된 시편들을 에탄올 용액으로 25%에서 100%까지 순차적으로 탈수하고 Epon 812에 포매하였다. 포매된 조직은 초박절편기(Reichert-Jung, Ultracut E)를 이용하여 1μm 두께의 semi-thin절편과 70~90nm 두께의 ultra-thin(초박)절편으로 제작하였으며 semi-thin절편은 toluidine blue로 염색한 뒤 광학현미경하에서 관찰하였다. 초박절편은 5% uranyl acetate에서 20분간, lead citrate에서 3분간 염색한 후 투과전자현미경(JEOL, JEM 1200 EX II, Japan)으로 관찰하였다.

나. 전단결합강도 측정을 위한 시편제작

투과전자현미경 관찰을 위한 방법과 동일하게 시편을 제작하고 실험군을 분류한 뒤 상아질 표면을

20초간 수세 후 표면을 건조시키지 않고 과량의 물만을 제거하기 위하여 얇은 흡습지를 가볍게 눌러 윤택한 표면이 나타나도록 하였다. Primer A 2방울과 Primer B 2방울을 용기내에서 혼합한 뒤 상아질 표면에 5회 연속 도포하였으며 도포 사이에 건조는 시행하지 않았다. 도포 후 상아질 표면을 5~6초 이상 충분히 건조시켜 물과 아세트산이 휘발될 수 있게 하였으며 건조 후 상아질 표면이 윤택하지 않은 부위(dry spot)가 남아 있는 경우 혼합된 접착강화제를 1~2회 재도포 하였다. 이후 접착레진(adhesive resin)을 접착강화제가 도포된 표면에 균일한 층으로 도포한 뒤 20초간 광중합하였으나 압축 공기로 접착레진을 얇게 균일화하려는 시도는 행하지 않았다. 접착제 도포 후 내경 5.0 mm, 높이 7.5mm의 원형 캡슐에 충전되어진 Z-100 수복레진을 상아질 표면에 위치시킨 뒤 400mW/cm² 광의 강도를 지닌 Visilux 2 (3M Dent. Prod, USA)를 사용하여 40초간 광중합하였다. 접착이 완료된 시편들을 37°C의 증류수에 24시간 보관한 뒤 상아질 접착면의 바로 인접부위에 접착면과 동일한 방향으로 전단이 되어질 수 있도록 전단 결합강도 측정용 지그에 시편을 고정하여 만능시험기(Instron, Model 4201, USA)에서 cross-head speed 1mm/min 속도로 측정하였다. 측정된 값들을 토대로 개개 실험군의 평균값과 표준편차를 환산하였으며 각 군간의 통계학적 유의성은 one-way ANOVA를 이용하였다.

III. 실험결과

가. 투과전자현미경 관찰

실험 1군(대조군): 상아질 표면을 10% 인산젤을 사용하여 20초간 탈회시킨 시편으로 4.0~5.0 μ m의 탈회 깊이를 보이고 심부의 변성되지 않은 상아질과 비교적 명확한 경계를 이루고 있으며(Fig. 3a, 3b) 상부에서 변성 또는 붕괴된 교원섬유층을 볼 수 없다(Fig. 3b, 3c). 고배율에서 관찰된 교원섬유들은 표면과 평행하게 주행하고 있으나 상아세관 주위에서는 환상으로 배열되고 있었으며 직경은 대부분 0.1 μ m의 두께를 가지고 전형적인 횡방향의 띠 형태들도 보여주고 있었다(Fig. 3c).

실험 2군: 상아질 표면을 10% 인산 용액으로 20

초간 탈회시킨 시편으로 인산젤 형태에서와 같이 4.0~5.0 μ m의 탈회 깊이를 보여주고 있으며 교원섬유층 하방에서 미약하나마 부분적 탈회층의 모습을 찾아볼 수 있다(Fig. 4a, 4b). 관주상아질에서 관상아질로 이어지는 부위의 전이대(transition zone)가 전자 밀도가 높은 흑색 구조의 형태로서 나타나고 있으며 탈회된 교원섬유층내에서 측지(lateral branch)로 보여지는 구조들이 0.3 μ m의 직경을 가지는 원형으로 또는 1 μ m 길이의 타원형의 형태로 보여지고 있다(Fig. 4b). 고배율 관찰에서는 교원섬유들이 표면과 평행하게 또는 표면에 수직으로 일정한 방향성없이 주행되고 있으나 횡방향의 띠 형태들은 유지되고 있다(Fig. 4c).

실험 3군: 상아질 표면을 20% 인산 용액으로 20초간 탈회시킨 시편으로 6.5~7.0 μ m의 탈회 깊이를 보여주고 있으며 교원섬유층 하방에 0.8~1.0 μ m의 두께로 명확히 형성된 부분적 탈회층의 모습을 볼 수 있다(Fig. 5a, 5b). 탈회된 교원섬유층과 전진 상아질층에서 측지들이 3 μ m 길이의 타원형의 형태로 또는 1 μ m 직경의 원형으로 보여지고 있다(Fig. 5b). 고배율에서 관찰된 교원섬유들은 표면에 수직으로 주행하고 있으나 상아세관 주위에서는 환상으로 배열되고 있다(Fig. 5c).

실험 4군: 상아질 표면을 30% 인산 용액으로 20초간 탈회시킨 시편으로 6.5~7.5 μ m의 탈회 깊이를 보여주고 있고 탈회된 교원섬유층내에 횡으로 잘려진 상아세관들이 배열되어 있으며 기저부에서 미약하게 형성된 부분적 탈회층의 모습을 볼 수 있다(Fig. 6a, 6b). 고배율에서 관찰된 교원섬유들은 표면과 평행하게 주행하고 있으며 상아세관 주위에서의 환상 배열 형태도 명확하지 못하다(Fig. 6b, 6c).

실험 5군: 상아질 표면을 40% 인산 용액으로 20초간 탈회시킨 시편으로 9.0~15.0 μ m의 비교적 편차가 큰 탈회 깊이를 보여주고 있으며 세관 입구 부위에서 교원섬유들이 측방으로 함몰되어 2 μ m 직경으로 수축되는 상을 보이다가 아래쪽으로 3 μ m로 넓혀져 깔대기 모양으로 변하는 상아세관을 볼 수 있다(Fig. 7a, 7b). 관상아질층에서의 교원섬유들의 배열이 표면과 평행하게 주행되다가 관주상아질로 이어지는 부위의 전이대에서 급하게 멈추는 모습을 관찰할 수 있다(Fig. 7b). 고배율에서

관찰된 교원섬유들은 표면과 평행하게 주행되고 있으며 횡방향의 띠들을 명확하게 보여주고 있다(Fig. 7c).

실험 6군:상아질 표면을 10% 인산 용액으로 15초간 탈회시킨 시편으로 2.5~3.0 μ m의 탈회 깊이를 보여주고 있으며 교원섬유층 하방에 명확히 형성된 부분적 탈회층의 모습을 찾아볼 수 없다(Fig. 8a, 8b). 고배율 관찰에서 횡방향으로 절단된 교원섬유들이 상아세관 주위로 환상으로 배열되는 모습을 볼 수 있다(Fig. 8b).

실험 7군:상아질 표면을 10% 인산 용액으로 30초간 탈회시킨 시편으로 4.0~6.0 μ m의 탈회 깊이를 보여주고 있으며 교원섬유층 하방에 미약하나마 부

분적 탈회층의 모습을 볼 수 있다(Fig. 9a, 9b).

실험 8군:상아질 표면을 10% 인산 용액으로 60초간 탈회시킨 시편으로 6.5~7.0 μ m의 탈회 깊이를 보여주고 있으며 교원섬유층 하방에 0.5~1.0 μ m의 두께로 명확히 형성된 부분적 탈회층의 모습을 볼 수 있다(Fig. 10a, 10b). 탈회 깊이가 증가되면서 부분적으로 교원섬유들이 층내에서 붕괴되어 주름이져 있는 것을 보여주고 있다(Fig. 10b).

실험 9군:상아질 표면을 10% 인산 용액으로 120초간 탈회시킨 시편으로 8.5~14.0 μ m의 다양한 탈회 깊이를 보여주고 있으며 탈회 깊이가 증가되면서 많은 부위에서 교원섬유들이 층내에서 붕괴되어 주름이져 있는 것을 보여주고 있다(Fig.

Table 2. Effect of differences in concentration and applied time of H3PO4 solution on shear bond strength to dentin(n=10)

Dentin conditioning	Shear bond strength (MPa)
10% H ₃ PO ₄ solution, 20 seconds	15.4±3.2
20% H ₃ PO ₄ solution, 20 seconds	17.2±2.8
30% H ₃ PO ₄ solution, 20 seconds	16.6±2.3
40% H ₃ PO ₄ solution, 20 seconds	16.7±2.8
10% H ₃ PO ₄ solution, 15 seconds	17.7±2.5
10% H ₃ PO ₄ solution, 30 seconds	19.2±4.2
10% H ₃ PO ₄ solution, 60 seconds	17.5±2.4
10% H ₃ PO ₄ solution, 120 seconds	15.2±2.7

*:statistically significant difference(P<0.05)

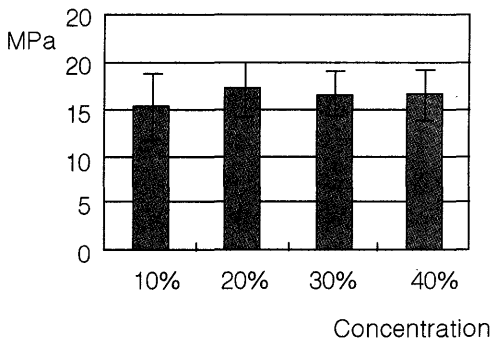


Fig. 1. Shear bond strengths to acid-conditioned dentin for 20s according to the difference in concentration of phosphoric acid.

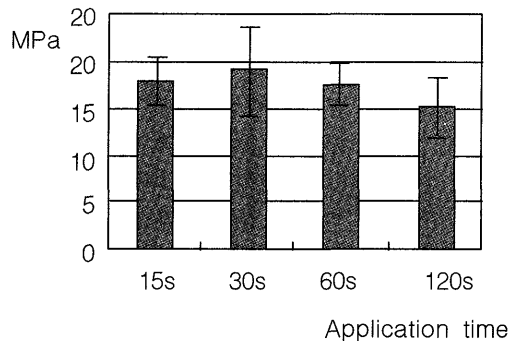


Fig. 2. Shear bond strengths to acid-conditioned dentin according to the difference in application time of aqueous 10% phosphoric acid.

11a). 교원섬유층 하방에 미약하지만 1.0 μ m의 두께로 형성된 부분적 탈회층의 모습을 볼 수 있다(Fig. 11b).

나. 전단결합강도

Table 2는 상아질에 대한 인산용액의 농도와 적용시간 차이에 따른 전단결합강도의 평균값과 표준편차를 요약한 도표이며, Fig. 1과 Fig. 2는 이를 비교한 그림이다. 상아질에 대한 인산용액의 농도 차이에 따른 결합강도는 20% 적용군, 40% 적용군, 30% 적용군, 10% 적용군의 순서로 낮았지만 각 실험군간의 통계학적 유의성은 없었다($P>0.05$). 또한 상아질에 대한 10% 인산 용액의 적용시간 차이에 따른 결합강도는 30초간 처리한 군이 120초간 처리한 군에 비해 높은 유의성($P<0.05$)을 나타내었으나 나머지 다른 실험군간의 유의한 차이는 보이지 않았다 ($P>0.05$).

IV. 총괄 및 고안

현재 대부분의 상아질 접착제들은 친수성 레진 단량체가 부분적으로 탈회된 상아질로 확산되어 확산접합층(interdiffusion zone)을 형성함에 그 접착의 이론적 근거를 두고 있다. 상아질의 탈회 과정에 사용되는 산처리제들은 도말층을 제거하고 상아세관을 깔대기 모양으로 넓히며 교원섬유를 노출시키고 상아질의 투과도와 적습도(wetness)를 변화시키는 작용을 하고 있다. 산처리제는 상아질 표면에 형성된 도말층의 처리시, 상아질 기질에 형성된 유기 피막이나 도말층을 제거하여 표면에너지를 증가시킬 목적으로 사용되고 있으며, 산용액을 이용한 상아질 표면처리는 표면의 거칠기를 증가시켜 접착강화제의 상아질과의 접촉각(contact angle)을 감소시켜 줌으로써 효과적인 퍼짐과 습윤에 기여하며, 타액과 같은 오염요소들을 제거하는 데에도 도움을 주고 있다³⁰⁻³³. 산처리제를 사용하여 상아질로부터 무기질들을 제거하게 되면 수분이 수산화인회석 결정들이 있던 곳을 채우게 된다. 그러나 물은 수산화인회석 결정들 만큼 교원섬유들을 지지할 수 있는 물리적 힘을 갖지 못하므로 탈회 후 교원섬유들의 붕괴를 피할 수 없고 그에따라 교원섬유 사이의 공간들의 입체적 구조

에도 변화가 야기된다. 이러한 현상의 결과로 종측으로 절단된 레진 tag의 시작부분이 수축된 모습을 보이는 바, 상아질의 습윤이나 접착강화제 도포 후에도 이러한 입체적 구조가 회복되지 못함으로써 그와같은 형태가 나타난다고 주장¹¹)하고 있으며 본 논문의 투과전자현미경 관찰에서도 이를 확인할 수 있었다. 상아질 표면의 탈회 깊이는 산처리제의 농도와 확산계수, pH 및 pK, 그리고 적용시간과 접착강화제의 점도 및 형성된 도말층의 두께와 치밀정도 등에 영향을 받을 수 있다³⁰. Van Meerbeek 등¹¹)은 10초동안 적용시 10% 인산은 7.5 μ m, 10% 구연산은 2 μ m, 말레인산은 3 μ m 등으로 산처리제에 의해 상아질 표층이 다양하게 탈회됨을 보고하였으며, Perdigo 등²¹)은 실리카나 중합체를 함유한 겔형태 산처리제를 사용하여 15초간 상아질을 표면처리 한 결과 10% 인산에서는 1.3~2.7 μ m를 32%~35% 인산에서는 1.6~4.2 μ m의 비교적 깊지않은 탈회깊이를 보였다고 하였다. Van Meerbeek 등^{11,12})은 산처리 후 어느 정도의 깊이로 탈회되면 이상적일까하는 의문점에 대해 대략 3 μ m 정도의 탈회 깊이를 추천하고 있으며, 더불어 인산에 의한 상아질 표면처리는 3~10 μ m 이상으로 상아질이 너무 깊게 탈회되어 레진 혼합물이 탈회된 깊이까지 확산되지 못해 수분과 함께 힘없이 서 있는 노출된 교원섬유 구조가 있는 부분이 나타나며, 이 부위에서 파절이 쉽게 일어날 수 있음을 주장하고 있다. 본 실험의 결과에서는 10% 인산용액을 15초와 20초간 적용한 시편에서는 2.5~3.0 μ m와 4.0~4.5 μ m의 비교적 적은 탈회깊이를 보인 반면 120초간 적용한 시편에서는 40% 인산용액을 20초간 적용한 시편에서와 유사하게 14.5 μ m 깊이까지 깊게 탈회됨으로서 적용시간에 따라 탈회의 깊이 및 양상이 달라지고 있었다. 또한 Perdigo 등²¹)은 동일한 농도를 갖는 산처리제라 하더라도 제재들의 pH가 높을수록 상아질내로의 탈회 깊이는 감소된다고 하였다. 본 실험에서는 10%의 동일한 농도를 가지는 산처리제들의 산도를 측정된 결과 중합체를 첨가한 겔형태(pH 2.28)가 동일한 농도의 액상형태(pH 2.64)와 유사한 산도를 가짐으로써 탈회깊이에 있어 큰 차이를 보이지 않았지만 농후제(thickner) 첨가에 따른 탈회의 깊이나 형태에 있어 산도의 차이가 영향을 미칠 수 있음을 암시

하고 있다. 또한 강한 산성의 산처리제를 사용하여 도말층을 제거하고 상아질 표층을 탈회하는 경우 그 후 적용되는 접착강화제내의 레진 혼합물이 탈회된 깊이 만큼 충분히 확산되지 못해 탈회된 교원섬유층이 노출됨으로써 쉽게 가수분해 되고 시간이 경과됨에 따라 결합강도가 감소할 수 있음을 지적¹⁹⁾하고 있다. 본 실험에서도 10% 인산용액을 120초간 적용한 실험군의 탈회 깊이가 매우 깊고 교원섬유층내에 붕괴되어 나타나는 구조들을 많은 부위에서 보여줌으로서, 10% 인산용액을 30초간 적용한 실험군의 결합강도에 비해 10% 인산용액을 120초간 적용한 실험군의 결합강도가 유의하게 낮은 결과에 대한 설명이 될 수 있다.

산처리제내에 함유되어 있는 성분들에 의해서도 상아질에 대한 투과도가 변화될 수 있다. Pashley⁴⁵⁾는 겔형태 산처리제가 액상형태 산처리제에 비해 100배 낮은 확산계수를 갖는다고 하였다. 그러나 Ishikawa 등³⁵⁾은 인산용액에 의한 상아질 표면의 탈회효과는 점도에 관계없이 유사하다고 하였으며, Guba 등³⁵⁾은 3가지 다른 종류의 점도를 갖는 인산용액을 사용하여 법랑질 표면을 산부식한 결과 결합강도에 있어 차이가 없음을 보고하였다. 본 실험에서는 중합체가 첨가된 겔형태 산처리제가 동일한 10% 농도의 액상형태 산처리제보다 상아질 표면의 탈회시 탈회깊이가 약간은 깊게 나타나고 있었으나 Perdigao 등²¹⁾의 결과와는 달리 큰 차이를 보이지 않았다. 다만 10% 산처리제를 적용한 군들에서 관간상아질과 연결되는 관주상아질 둘레에 전자밀도가 높은 구조들(peritubular cuff)이 탈회 후에도 나타남으로써 다른 농도와 형태의 산처리제에 비해 탈회효과가 미약함을 알 수 있었다. Yamaguchi 등³⁶⁾과 Perinka 등³⁷⁾은 이러한 미약한 탈회 결과가 오히려 탈회층내에 칼슘을 많이 남기고 또한 실리카나 중합체가 무기질 입자(filler)의 역할을 함으로써 상아질과의 결합강도를 증가시키는 데 기여한다고 하였다. 이러한 관주상아질의 탈회 과정에는 상아세관을 통한 빠른 직접적인 산용액과의 접촉이 주로 관여되지만 탈회된 관간상아질의 측면과 측지(lateral branch)로부터의 접촉을 통해서도 일어나게 된다⁹⁾. 그러나 Marshall 등³⁸⁾은 산용액의 침투속도가 관간상아질과 관주상아질 모두에서 유사하게 일어난다고 하였다.

또다른 측면에서 산처리 후에 나타나는 상아질에 대한 투과도는 치수반응과 연관되어 의미를 갖는다. 복합레진 수복 후 미반응 레진 단량체들의 치수강쪽으로의 확산정도는 치수에 대한 독성을 평가하는데 간접적인 척도가 될 수 있다^{39,40)}. 특히 상아질의 산처리는 투과도를 증가시켜 레진 성분에 의한 치수내 세포독성 가능성을 한층 높힐 수 있다. Hume⁴¹⁾은 in vitro 실험에서 산처리하지 않은 상아질에 비해 산처리된 상아질 시편들에서 HEMA나 TEGDMA와 같은 복합레진내 화학적 성분들의 확산이 커 많은 배양세포들이 죽었다고 하였다. Fujitani 등⁴²⁾은 상아질을 노출시키고 접착레진과 복합레진을 적용시킨 원숭이 치아에서 조직학적으로 미생물에 의한 감염상태 없이 치수가 비가역적인 치수반응을 보였다고 하였다. 또한 Pashley 등⁴³⁾은 in vivo 실험에서 수력학적 전도로도 측정되어진 상아질의 투과도가 상아질을 산처리한 경우에서 5배 증가하였다고 하였다. 이처럼 상아질의 산처리는 명확히 투과도를 증가시킴으로 인해 치수가 외부 자극에 노출될 가능성을 증가시킨다. 이에 Hamid 등⁴⁴⁾은 산처리제의 농도와 적용시간이 레진과 상아질 사이의 물리적 상호반응과 확산정도에 미치는 영향을 연구하였는데 처음에 설정한 가설과는 달리 인산을 고농도로 긴 적용시간을 가진 실험군들에서 초기에 상아질의 투과도가 감소하였다고 보고함으로써, 치수에 대한 세포독성이 저농도로 짧은 적용시간을 가진 실험군들에 비해 적을 수 있음을 제시하였다. 이에 대해 37% 인산용액을 60초 동안 오래 적용하면 빠른 속도로 용해되었던 calcium phosphate결정들이 상아세관에 침적되어 세관의 직경을 작게하였기 때문에 투과도가 감소되었다고 설명하였으며, 또다른 가능성으로 탄산염이 탈회시 이산화탄소로 변환되면서 생긴 gas 거품들이나 젤라틴화한 교원섬유들이 상아세관을 막아 나타난 결과임을 제기하였다. 이러한 과정은 가역적 반응으로서 탈회 과정 초기에 일어나며 시간이 지남에 따라 침적된 광물질은 용해되고 붕괴된 교원섬유들은 재팽창하기 때문에 상아세관을 통해 확산된 총량은 모든 실험군에서 유사하다고 하였다. 또한 Wang과 Hume⁴⁵⁾은 고농도의 인산용액을 상아질에 적용시 용해가 일어나는 최전방부에서 calcium phosphate결정들이 형성되어 산용액에

의한 더 이상의 침투를 차단한다고 하였으며, Retief⁴⁶⁾는 범랑질에서도 85% 인산용액을 적용하여 탈회시킨 경우 10%~45% 인산용액에서 나타난 탈회효과를 얻는데 실패하였다고 하였다. 그러나 본 실험에서는 40% 인산용액과 같은 고농도 용액을 적용한 실험군이나, 저농도이지만 10% 인산용액의 긴 적용시간을 갖는 실험군에서 매우 깊은 15 μ m이상의 탈회 깊이 및 교원섬유층내 붕괴를 의미하는 구조들을 보여줌으로써 레진의 투과도가 깊지 못할 경우 매우 취약한 하이브리드층 기저부가 형성될 수 있음을 암시하였다.

관간상아질층에 나타나는 탈회의 깊이는 산처리제에 의한 상아질 표면의 탈회에 의미가 있다. 그 이유는 대부분의 산처리제에 의해 상아질 표층이 탈회되면서 기질의 일부가 비가역적으로 제거되기 때문이며 이러한 과정은 실험시 상아질 표면을 varnish와 같은 제재로 보호하지 않으면 관찰할 수 없게 된다. 예로 산용액에 의해 탈회된 상아질의 깊이가 표면 보호제를 사용한 실험에서는 8 μ m 두께로 측정되었으나 동일한 시편의 주사전자현미경상에서는 4 μ m로 감소되어 나타나는데 이를 위의 원인으로 설명할 수 있다. 이에 대한 또다른 이유로서 Carvalho 등⁴⁷⁾과 Perdigo 등⁴⁸⁾은 주사전자현미경 관찰을 위한 시편제작시 탈회된 상아질이 건조과정 동안 과수축되기 때문이라고 하였으며, 그 예로 시편을 고정(fixation)시킨 투과전자현미경에서의 탈회깊이가 동일한 시편의 주사전자현미경 관찰에서보다 매우 깊게 형성됨을 보고하고 있다. 이에 본 실험에서도 관찰된 탈회 깊이를 관간상아질층에서 측정하였으며 관주상아질 층이나 횡으로 상아세관이 절단된 부위에서는 측정하지 않았다.

실험된 모든 산처리제에서 세관 입구가 깔대기 모양으로 변화되었고 관간상아질내 다공성이 증가하였다. 깔대기 모양으로의 변화는 관주상아질과 관간상아질 사이에서 탈회양상의 차이에 기인하는데, 이는 관주상아질 부위가 상아세관을 통해 산용액에 쉽게 노출되어 관간상아질에 비해 현저한 탈회 양상을 보이기 때문이다⁴⁹⁾. 또한 탈회 후 지지력을 갖지 못한 교원섬유들이 건전 상아질층으로 붕괴되면서 측방으로 확장되어 상아세관의 입구를 줄이고 깔대기 모양을 만들게 된다. Perdigo 등²¹⁾은 관주상아질에서 관간상아질로 이어지는

부위의 전이대(transition zone)에서 collar의 형성을 보고하였다. 이러한 구조 역시 관주상아질과 관간상아질 사이에서 탈회양상의 차이에 기인한 것으로 석회화가 잘 되어진 관주상아질이 산용액을 효과적으로 중화시키면서 경계부위에 인접한 관간상아질의 탈회정도와 깊이가 상대적으로 중앙부의 관간상아질에 비해 적어, 경계부가 건전 상아질에 의해 효율적으로 유지 되기 때문이라고 하였다. 또한 관주상아질 주위로 높게 밀집되어 있는 환상의 교원섬유 띠들이 이러한 전이대 구조의 안정성에 더욱 기여하게 된다. 본 연구에서도 상아세관과 평행하게 잘려진 시편들에서 이러한 구조들이 교원섬유들의 주행방향이거나 전자밀도의 차이로 식별되어지고 있다.

상아질내 교원섬유들은 매우 강한 고리로 결합되어 있기 때문에 산처리제에 대해 높은 저항을 나타내어 변성될 수는 있으나 연결 고리가 쉽게 끊어지지 않는다는⁵⁰⁾. 그러한 탈회된 상아질내 교원섬유들의 붕괴는 주위로부터 유지력을 얻을 수 없기 때문에 일어나며 또한 산용액의 높은 수소이온농도로 인해 이온 변화되는 힘이 크기 때문에 발생된다. 이는 산처리제가 상아질로부터 무기질을 제거할 뿐 아니라 교원섬유내 펩타이드의 전하를 변화시키고 비교원섬유성 단백질 성분들을 제거하여 교원섬유를 양자화시키기 때문이다⁵¹⁾. 상아질의 산처리 후 일어나는 상아질내 구성성분의 변화에는 orthophosphate와 carbonate가 감소하고 amide I, II, III 기들이 증가한다. 또한 수소원소가 3중 α -나선구조내의 amide I 탄소기와 결합하는 분자간 결합은 줄어들고, 수소원소가 물과 결합한 구조의 아미노산 잔여체가 증가한다. 이와같이 교원섬유내의 성분들이 저분자량을 갖는 저중합체(oligomer) 아미노산으로 변하는 과정은 비가역적이고, 낮은 에너지를 갖는 조직으로의 변화를 의미한다⁵¹⁾. 그러나 Payne과 Veis⁵²⁾는 이렇게 변성된 교원섬유들이 조건의 변화에 따라 부분적으로 삼중 나선형의 형태를 회복할 수 있다고 하였으며, 결과적으로 분자간 결합이 재형성되고 낮은 에너지를 갖았던 구조가 높은 에너지를 갖는 구조로 변화될 수 있다고 하였다. 바로 이러한 예로 HEMA와 친수성의 접착강화제를 들었으며, 이는 수소원소가 탄소가 아닌 물과 결합되어 있는 아미노산 잔

여체에 접착강화제가 접근하여 부분적으로 분자간 결합을 회복시켜 제 3의 교원섬유 구조를 만들어냄으로써 가능하다고 하였다. 만일 이러한 과정이 탈회된 상아질 내층에서 실제로 일어난다면 변성된 교원섬유를 강화시켜 내구성을 증진시키려는 연구가 합리적인 것으로 평가될 수 있다.

교원섬유의 주행방향에 대해 Van Meerbeek¹²⁾은 관간상아질내 교원섬유들이 상아질 표층에 평행하고 상아세관에 수직인 방향으로 대부분 진행되며 레진의 침투가 이러한 횡방향으로 주행되는 교원섬유들에 의해 제한을 받을 수 있다고 보고하였으나 본 연구에서는 이와는 상이하게 교원섬유들이 많은 부위에서 표층에 수직으로 주행되는 모습과 상아질 표층에 평행하게 주행되는 모습 모두를 보여주고 있었으며 더불어 상아세관 주위로의 환상 배열 형태도 횡으로 절단된 시편들에서 나타나고 있어 시편제작시 절단되는 방향에 따라 차이가 있을 수 있음을 암시하고 있다. 이에 대해 Pashley 등⁷⁾은 관간 상아질내의 교원섬유들은 일정한 방향성을 갖지 않고 비규칙적으로 주행되나 관주상아질을 이루고 있는 교원섬유들은 환상의 형태를 이루면서 진행한다고 하였다. 산 표면처리 후 위와같은 탈회 교원섬유층내의 교원섬유들을 안정화시키는 것이 강한 하이브리드층을 형성하는데 매우 중요한 요소이며 특히 레진으로 감싸여진 이러한 탈회된 교원섬유층이 수복레진의 중합시 발생하는 수축을 보상하고 외력에 대해 완충작용을 가지는 탄성을 내재함으로써 상아질에 대한 강한 결합을 이룰 수 있다고 주장하였다¹⁴⁾.

하이브리드층의 기저부에 나타나는 부분적 상아질 탈회층은 탈회되지 않고 남아있는 잔여 수산화인회석을 함유하며 동시에 교원섬유의 노출을 보이고, 그리고 탈회된 교원섬유층과 변형되지 않은 심부 상아질 사이에 존재하는 구조라고 설명하였다²⁾. Watanabe 등¹⁰⁾은 이러한 구조물을 레진 침투의 최하방 부위로 생각하고 있으며 부분적으로 유리된 수산화인회석들이 레진 성분으로 감싸여진 뒤 교원섬유 위에 침적되어 나타나는 모습이라고 설명하고 있다. 또한 이러한 조직은 산에 대한 높은 저항성을 지님과 더불어 쉽게 가수분해 되지 않음으로써 더욱 내구성있는 상아질 결합을 만들어낼 수 있음을 제언하고 있다. Ikami 등³⁾은 2.5% 말레

인산 이나 0.5 M EDTA를 이용하여 상아질을 표면처리하면 완전하게 무기질이 제거되지 않고 위로부터 점차적으로 탈회되어 위와같은 부분적 탈회층이 생겨나지만 38% 인산용액을 사용한 경우에는 무기질이 거의 대부분 빠져나가 건전 상아질과 명확한 경계를 가진다고 하였다. 그러나 본 실험에서는 이와는 다르게 10%인산 용액과 20% 인산용액을 적용한 군에서 적게는 0.5 μ m 부터 크게는 1.0 μ m 까지 부분적 탈회층이 형성됨을 보여줌으로써 위와는 다른 결과를 보여주었다.

산 표면처리 후 레진-상아질간 하이브리드층내의 무기질, 특히 잔여된 수산화인회석 결정들은 여러 현미경적 연구에서 보고된 바와 같이 레진에 의해 감싸여져 강한 결합을 이루는데 중요한 요소로 인식되고 있으며, 수산화인회석이 가지는 완충능력과 다른 상아질내 성분들에 의해 산처리제의 침윤이 제한되어진다. 또한 환상의 교원섬유 띠들이 관주상아질 부위에서 부분적으로 나타나지만 탈회 과정에 의해 교원섬유들이 안정성을 잃고 환상의 띠형태를 갖추지 못하게 되며, 변성되지 않은 교원섬유가 있다 하더라도 효소 매개에 의해 분해되는데 이는 상아질 교원섬유의 분해 또는 변성에 대한 저항성과 안정성에 수산화인회석 결정들의 역할이 큼을 반증하고 있다. Prockop 등⁵⁾은 산처리 후에도 관간상아질층 교원섬유들이 붕괴되지 않고 제 모습을 갖추고 있는 것은 교원섬유들의 망사구조내에 잔여 수산화인회석 결정들이 남아있기 때문이라 하였으며, Seivig⁹⁾는 이러한 잔여 수산화인회석 결정들이 교원섬유 사이보다 주로 교원섬유에 밀접하게 부착되어 존재한다고 하였다. Wang 등⁵⁾과 Sano 등⁸⁾은 산처리제내에 포함되어 있는 칼슘, 철, 알루미늄 이온과 같은 양이온들도 교원섬유를 안정화시키고 탈회깊이를 감소시키는 데 관여한다고 하였으며, Imai와 Ikemura⁵⁾는 접착강화제내의 구리 이온이 중합반응의 개시를 촉진하고, 10% 인산으로 산처리된 상아질과 4-META를 함유한 접착레진 사이의 인장결합강도를 증가시켰다고 하였다.

지금까지 많은 상아질 표면처리제들이 소개되었으며 이러한 처리제들에 의한 형태학적 변화와 탈회 양상 및 구성 성분에 대한 연구 결과들이 발표되어 왔다. 그러나 이러한 결과들을 연구하기 위

한 많은 장비들이 고진공 상태나 고에너지를 갖는 탐사침(probe)을 사용하기 때문에 시편의 과도한 건조나 전자 빔들의 방사에 의한 손상 및 대전 효과(charging effect)들에 의해 잘못된 결과가 유도될 수 있음을 지적하고 있다. 이러한 문제점들을 극복하기 위해서는 in situ에서 생체조직을 이미징화 할 수 있는 AFM(atomic force microscopy)과 같은 기기를 사용하여 대기 상태(atmospheric condition)에서 수분을 함유한 상아질 시편을 고해상도로 삼차원 형상으로 변환시키는 것이 필요하다고 사료되며, 또한 ATR(attenuated total reflectance)이나 MIR(multifile internal reflectance)-FTIR spectroscopy와 같은 비파괴적 분석방법으로 in situ에서 표층으로부터 다양한 깊이에 있는 성분들의 분자 구성을 결정하고, 산처리제에 의해 야기된 상아질 교원섬유내의 형태 및 성분 변환을 추적할 수 있는 분석기기의 사용이 필요하다 사료된다.

V. 결 론

중합체 첨가 및 인산용액의 농도차이에 따른 상아질 표면의 탈회 깊이 및 양상 그리고 결합강도의 변화를 연구하기 위하여 10% 인산겔(All Bond 2, Bisco)과 10% 인산용액 및 20%, 30%, 40% 인산용액을 5개의 실험군으로 나누고 노출된 상아질 표면에 20초간 적용하였으며, 적용시간의 증가에 따른 탈회 깊이 및 탈회 양상과 결합강도의 변화를 연구하기 위하여 10% 인산용액을 상아질 표면에 15초, 30초, 60초 및 120초 동안 적용한 4개의 실험군으로 분류하였다. 산 표면처리 후 4% glutaraldehyde를 사용하여 전고정하였으며 탈회 과정 없이 후고정하고 염색한 뒤 투과전자현미경으로 관찰하였으며, 접착레진을 도포하고 수복레진을 충전한 뒤 각 실험군들에 대한 전단결합강도를 측정하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 중합체가 함유된 10%인산겔을 적용한 실험군에서 관간상아질의 탈회깊이는 4.0~5.0 μm 로서 동일한 농도의 10% 인산용액에 의한 탈회 깊이인 4.0~4.5 μm 보 다 약간 증가되었으나 큰 차이는 나타나지 않았다.

2. 20% 인산용액에 의한 관간상아질 표면의 탈회 깊이는 6.5~7.0 μm 를 보였으며, 30% 인산용액과 40% 인산용액에서는 각각 6.5~7.5 μm 와 9.0~15.0 μm 를 보임으로서 농도 증가에 따라 탈회 깊이가 부분적으로 깊어짐을 보였다.
3. 10% 인산용액을 15초, 30초, 60초 및 120초간 적용한 관간상아질에서의 탈회 깊이는 각각 2.5~3.0 μm , 4.0~6.0 μm , 6.5~7.0 μm 와 8.5~14.0 μm 로서 적용시간 증가에 따라 탈회 깊이가 비례하여 깊어짐을 보였다.
4. 탈회된 교원섬유층과 심부 상아질 사이에서 상아질의 부분적 탈회층(partially demineralized layer)이 비교적 낮은 농도인 10% 인산용액 20초 적용군과 60초 및 120초 적용군, 그리고 20% 인산용액을 20초간 적용한 군에서 관찰되었다.
5. 관간상아질과 관주상아질이 만나는 경계에서 탈회정도가 미약함을 의미하는 전자밀도가 높은 구조들을 관찰할 수 있다. 또한 교원섬유들이 관간상아질층에서는 일정한 방향성없이 주행되고 있으나 상아세관 주위로는 환상의 배열형태를 갖추고 있으며 교원섬유내 횡방향의 띠 형태들도 유지되고 있다.
6. 10%~40%의 각기 다른 농도의 인산용액을 적용한 실험군들에서 농도변화에 따른 결합강도의 유의한 차이는 나타나지 않았다($P>0.05$). 그러나 10% 인산용액의 적용시간 증가에 따른 결합강도의 변화에서 120초간 적용한 실험군의 결합강도가 30초간 적용한 실험군에 비해 유의하게 적게 나타났다($P<0.05$).

References

1. Holderegger C., Paul S.J., Luthy H., Schärer P., Bond strength of one-bottle dentin bonding agents on human dentin. *Am. J. Dent.*, 10:71-76, 1997.
2. Watanabe I, Nakabayashi N. Bond durability of photocured Phenyl-P in TEGDMA to smear layer-retained bovine dentin. *Quint. Int.*, 24:335-342, 1993.
3. Tay F.R., Gwinnett J.A., Wei S.H.Y. Micro-morphological spectrum from overdrying to

- overwetting acid-conditioned dentin in water-free, acetone-based, single-bottle primer/adhesives. *Dent. Mater.*, 12:236-244, 1996.
4. Kanca J., Gwinnett J.A. Successful marginal adaptation of a dentin enamel bonding system in vivo and in vitro. *J. Esthet. Dent.*, 6:286-294, 1994.
 5. Tay F.R., Gwinnett J.A., Wei S.H.Y. Ultrastructure of the resin-dentin interface following reversible and irreversible rewetting. *Am. J. Dent.*, 10:77-82, 1997
 6. Ferrari M., Mannocci F., Vichi A. & Davidson C.L. Effect of two etching times on the sealing ability of Clearfil Liner Bond 2 in class V restorations. *Am. J. Dent.*, 10:66-70, 1997
 7. Pashley D.H., Ciucchi B., Sano H., Horner J.A. Permeability of dentin to adhesive agents. *Quint. Int.*, 24:618-631, 1993.
 8. Sano H., Shono T., Takatsu T., Hosoda H. Microporous dentin zone beneath resin-impregnated layer. *Oper. Dent.*, 19:59-64, 1994.
 9. Selvig K.A. Ultrastructural changes in human dentine exposed to a weak acid. *Arch. Oral Biol.*, 13:719-134, 1968.
 10. Nakabayashi N., Kojima K., Masuhara E. The promotion of adhesion by the infiltration of monomers into tooth substrates. *J. Biomed. Mater. Res.*, 16:265-273, 1982.
 11. Van Meerbeek B., Dhern A., Goret-Nicaise M., Braem M., Lambrechts P., Vanherle G. Comparative SEM and TEM examination of the ultrastructure of the resin-dentin interdiffusion zone. *J. Dent. Res.*, 72:495-501, 1993.
 12. Van Meerbeek B., Inokoshi 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.
 13. Buonocore M.G. A simple method of increasing the adhesion of acrylic filling materials to enamel surfaces. *J. Dent. Res.*, 34:849-853, 1955
 14. Chiba M., Itoh K., Wakumoto S. Effect of dentin cleansers on the bonding efficacy of dentin adhesive. *Dent. Mater.*, 8:76-85, 1989.
 15. Pashley D.H., Horner J.A., Brewer P.D. Interactions of conditioners on the dentin surface. *Oper. Dent. Suppl.*, 5:137-150, 1992.
 16. Nakabayashi N. Adhesive bonding with 4-META. *Oper. Dent. Suppl.*, 5:125-130, 1992.
 17. Nakabayashi N., Takarada K. Effect of HEMA on bonding to dentin. *Dent. Mater.*, 8:125-130, 1992.
 18. Kato G., Nakabayashi N. Effect of phosphoric acid concentration on wet bonding to etched dentin. *Dent. Mater.*, 12:250-255, 1996.
 19. Watanabe I., Nakabayashi N., Pashley D.H. Bonding to ground dentin by a Phenyl-P self-etching primer. *J. Dent. Res.*, 73:1212-1220, 1994.
 20. Sano N., Takatsu T., Ciucchi B., Horner J.A., Matthews W.G., Pashley D.H. Nanoleakage: Leakage within the hybrid layer. *Oper. Dent.*, 20:18-25, 1995.
 21. Perdigao J., Lambrechts P., Van Meerbeek B., Tome A.R., Vanherle G., Lopes A. B. Morphological field emission-SEM study of the effect of six phosphoric acid etching agents on human dentin. *Dent. Mater.*, 12:262-271, 1996.
 22. Suzuki M., Kato H., Wakumoto S. Vibrational analysis by Raman spectroscopy of the interface between dental adhesive resin and dentin. *J. Dent. Res.*, 70:1092-1097, 1991.
 23. Kanca III J. Effect of resin primer solvents and surface wetness on resin composite bond strength to dentin. *Am. J. Dent.*, 5:213-215, 1992.
 24. Gwinnett A.J., Kanca III J. Micromorphological relationship between resin and dentin in vivo and in vitro. *Am. J. Dent.*, 5:19-23, 1992.
 25. Guba C.J., Cochran M.A., Swartz M.L. The effects of varied etching time and etching solution viscosity on bond strength and enamel morphology. *Oper. Dent.*, 19:146-153, 1994.

26. Kubo S., Finger W.J., Muller M., Podszun W. Principles and mechanisms of bonding with dentin adhesive materials. *J. Esthet. Dent.*, 3:62-69, 1991.
27. Perdigao J., Denehy G.E., Swift E.J. Silica contamination of etched dentin and enamel surfaces: A scanning electron microscopic and bond strength study. *Quint. Int.*, 25:327-333, 1994.
28. Eick J.D. Smear layer-Materials surface. *Proc. Finn. Dent. Soc.*, 88:225-242, 1992.
29. Perdigao J., Lambrechts P., Vanherle G. A morphological Field Emission SEM study of acid-etched dentin (abstract 42). *J. Dent. Res.*, 74:916, 1994.
30. Erickson R.L. Surface interactions of dentin adhesive system. *Oper. Dent.*, Suppl. 5:81-94, 1992.
31. Shafrin E.G., Zisman W.A. Critical Surface tension for spreading on a liquid substrate. *J. Physical chemistry*, 71:1309-1316, 1967.
32. Jendresen M.D., et al. Microtopography and clinical adhesiveness of acid etched surface: in vivo study. *Acta Odontologica Scandinavica*, 390:47-53, 1981.
33. Hollinger J.O., Moore E.D. Adhesion and dentin. *Oper. Dent.*, 4:9-14, 1979.
34. Pashley D.H. The effects of acid etching on the pulpodentin complex. *Oper. Dent.*, 17:229-242, 1992.
35. Ishikawa K, Ito S, Hata Y. Permeability of etching agent constituents through dentin. *Dent. Mater.*, 8:164-174, 1989.
36. Yamaguchi R., Powers J.M., Dennison J.B. Parameters affecting in vitro bond strength of composites to enamel and dentin. 5:153-156, 1989.
37. Perinka L., Sano H., Hosoda H. Dentin thickness, hardness, and Ca-concentration vs. bond strength of dentin adhesives. *Dent. Mater.*, 8:229-233, 1992.
38. Marshall G.W., Balooch M., Kinney J.H., Marshall S.J. Atomic force microscopy of conditioning agents on dentin. *J. Biomed. Res.*, 29:1381-1387, 1995.
39. Hume W.R., Gerzina T.M. Release of monomers from bonding resin-composite resin combinations through dentin in vitro. *J. Dent. Res.*, 73:224, 1994.
40. Gerzina T.M., Hume W.R. Effect of hydrostatic pressure on the diffusion of monomers through dentin in vitro. *J. Dent. res.*, 74:369-373, 1995.
41. Hume W.R. A new technique for screening chemical toxicity to the pulp from dental restorative materials and procedures. *J. Dent. Res.*, 64:1322-1325, 1985.
42. Fujitani M., Inokoshi S., Hosada H. Effect of acid etching on the dental pulp in adhesive composite restorations. *Int. Dent. J.*, 42:3-11, 1992.
43. Pashley D.H. Dentin-predentin complex and its permeability: Physiologic overview. *J. Dent. Res.*, 64:613-620, 1985.
44. Hamid A., Sutton W., Hume W. R. Variation in phosphoric acid concentration and treatment time and HEMA diffusion through dentin. *Am. J. Dent.*, 9:211-214, 1996.
45. Wang J.D, Hume W.R. Diffusion of hydrogen ion and hydroxyl ion from various sources through dentin. *Int. Endodont. J.*, 21:17-26, 1988.
46. Retief D.H. The use of 50 percent phosphoric acid as an etching agent in orthodontics: A rational approach. *Am. J. Orthodont.*, 68:165-178, 1975.
47. Carvalho R., Yoshiyama M., Tagami J., Sano H., Brewer P., Pashley D. Shrinkage of demineralized dentin during preparation for SEM (abstract 2981). *J. Dent. Res.*, 75:390, 1995.
48. Perdigao J., Lambrechts P., Van Meerbeek B., Vanherle G., Lopes A.L.B. A field emission SEM comparison of four post-fixation drying

- techniques for human dentin. *J. Biomed. Mater. Res.*, 29:1111-1120, 1995.
49. 이광원, 이명종. 산 표면처리 후 상아질 표면의 습윤이 하이브리드층 형성에 관한 전자현미경적 연구. *대한치과보존학회지*, 20:463-486, 1995.
50. Butler W.T. Dentin collagen:Chemical structure and role in mineralization. In:Linde A(ed). *Dentin and Dentinogenesis*, vol II, Boca Raton, FL:CRC Press, 37-53, 1984.
51. Eliades G., Palaghias G., Vougiouklakis G. Effect of acidic conditioners on dentin morphology, molecular composition and collagen conformation in situ. *Dent. Mater.*, 13:24-33, 1997.
52. Payne K. J., Veis A. Fourier transform IR spectroscopy of collagen and gellatin solutions. Deconvolution of the amide I band for conformational studies. *Biopolymers*, 27:1749-1760, 1988.
53. Ikami K., Fikushima M., Usami Y., Iwaku M. The effects of surface conditioners on dentin structure (abstract 861). *J. Dent. Res.*, 72:221, 1993.
54. Prockop D.J., Kivirikko K.I, Tuderman L., Guzaman N.A. The biosynthesis of collagen and its disorders. *N. Engl. J. Med.*, 301:13-23, 1979.
55. Wang T., Nikando T., Nakabayashi N. Photocure bonding agent containing phosphoric methacrylate. *Dent. Mater.* 7:59-62, 1991.
56. Imai Y., Ikemura R. Influence of primers containing cupric ion on bonding of dentin treated with phosphoric acid. *Dent. Mater.*, 13:66-75, 1994.

Explanation of Figures

- Fig. 3a. TEM observations of the demineralized dentin specimen treated with 10% polymer-thickened phosphoric acid gels for 20seconds,(DD:Demineralized Dentin, UD:Unaffected Dentin) (TEM $\times 1500$, bar represents $5\mu\text{m}$)
- Fig. 3b. Higher magnification TEM of fig. 3a. Note sharp demarcation between the demineralized dentin and unaffected dentin,(DT:Dentinal Tubule) (TEM $\times 2500$, bar represents $2\mu\text{m}$)
- Fig. 3c. Higher magnification TEM of fig. 3b. The horizontally running collagen fibrils in the intertubular dentin and circumferentially aligning fibrils that lined tubules can be seen. (TEM $\times 5000$, bar represents $1\mu\text{m}$)
- Fig. 4a. TEM observations of the demineralized dentin specimen treated with aqueous 10% phosphoric acid solution for 20s.(white arrows:lateral canal) (TEM $\times 2500$, bar represents $2\mu\text{m}$)
- Fig. 4b. Higher magnification TEM of fig. 4a. Note electron dense black structure at the border of inter-tubular-peritubular junction(straight black arrows). Curved black arrows indicate lateral canals. (TEM $\times 5000$, bar represents $1\mu\text{m}$)
- Fig. 4c. Higher magnification TEM of fig. 4b. Both of horizontally and perpendicularly running collagen fibrils into the interface can be seen. (TEM $\times 10000$, bar represents 500nm)
- Fig. 5a. TEM observations of the demineralized dentin specimen treated with aqueous 20% phosphoric acid for 20s. Note the perpendicularly running collagen fibrils into the interface. White arrows indicate the junction between the partially demineralized dentin layer and unaffected dentin. (TEM $\times 2500$, bar represents $2\mu\text{m}$)
- Fig. 5b. Higher magnification TEM of fig. 5a. Note the perpendicularly running collagen fibrils into the interface in the intertubular dentin. (TEM $\times 5000$, bar represents $1\mu\text{m}$)
- Fig. 5c. Higher magnification TEM observations of another demineralized dentin specimen treated with aqueous 20% phosphoric acid solution. The partially demineralized dentin layer(PDD) between demineralized collagen layer and unaffected dentin can be seen to a width of $0.5\text{-}0.8\mu\text{m}$. (TEM $\times 5000$, bar represents $1\mu\text{m}$)
- Fig. 6a. TEM observations of the demineralized dentin specimen treated with aqueous 30% phosphoric acid solution for 20s. (TEM $\times 2500$, bar represents $2\mu\text{m}$)
- Fig. 6b. Higher magnification TEM of fig. 6a. Note the horizontally running collagen fibrils in the intertubular dentin.(TEM $\times 5000$, bar represents $1\mu\text{m}$)
- Fig. 6c. Higher magnification TEM of fig. 6b. The circumferentially aligning collagen fibrils that lined tubules can not be seen clearly. (TEM $\times 10000$, bar represents 500nm)
- Fig. 7a. TEM observations of the demineralized dentin specimen treated with aqueous 40% phosphoric acid for 20s. Note sharp demarcation between the demineralized dentin and unaffected dentin. (black arrow:tubule orifice), (TEM $\times 2500$, bar represents $2\mu\text{m}$)
- Fig. 7b. Higher magnification TEM of fig. 7a. The running direction of collagen fibrils at the border of inter-tubular-peritubular junction is changed abruptly(curved black arrow). (TEM $\times 5000$, bar represents $1\mu\text{m}$)
- Fig. 7c. Higher magnification TEM of fig. 7b. The cross-linkage of dentinal collagen in demineralized collagen layer can be clearly seen. (TEM $\times 10000$, bar represents 500nm)
- Fig. 8a. TEM observations of the demineralized dentin specimen treated with aqueous 10% phosphoric acid

for 15s. (TEM $\times 2000$, bar represents $2\mu\text{m}$)

Fig. 8b. Higher magnification TEM of fig. 8a. (TEM $\times 5000$, bar represents $1\mu\text{m}$)

Fig. 9a. TEM observations of the demineralized dentin specimen treated with aqueous 10% phosphoric acid for 30s. White arrows indicate the junction between the partially demineralized dentin layer and unaffected dentin. (TEM $\times 2500$, bar represents $2\mu\text{m}$)

Fig. 9b. Higher magnification TEM of fig. 9a. (TEM $\times 5000$, bar represents $1\mu\text{m}$)

Fig. 10a. TEM observations of the demineralized dentin specimen treated with aqueous 10% phosphoric acid for 60s. The partially demineralized dentin layer (white straight arrow) can be seen to a width of $0.5\text{-}1.0\ \mu\text{m}$. White curved arrows indicate lateral canal. (TEM $\times 2500$, bar represents $2\mu\text{m}$)

Fig. 10b. Higher magnification TEM of fig. 10a. The disintegration within the demineralized dentin layer due to the increased depth of demineralization can be seen partly as the electron dense black line (black arrow). (TEM $\times 5000$, bar represents $1\mu\text{m}$)

Fig. 11a. TEM observations of the demineralized dentin specimen treated with aqueous 10% phosphoric acid for 120s. The disintegration (black arrows) is gradually increased. (TEM $\times 2500$, bar represents $2\mu\text{m}$)

Fig. 11b. Higher magnification TEM of fig. 11a. The partially demineralized dentin layer (white arrow) can be seen to a width of $1.0\mu\text{m}$. (TEM $\times 5000$, bar represents $1\mu\text{m}$)

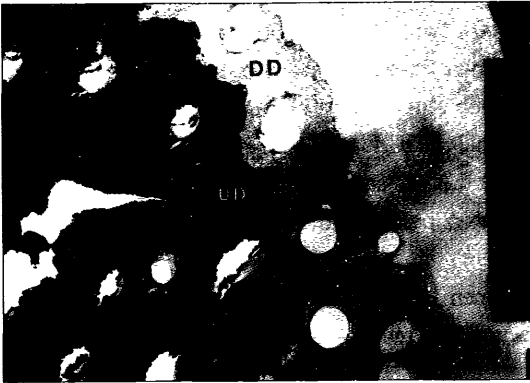


Fig. 3 a



Fig. 3 b

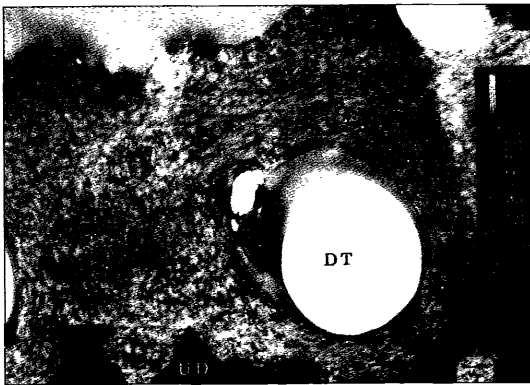


Fig. 3 c

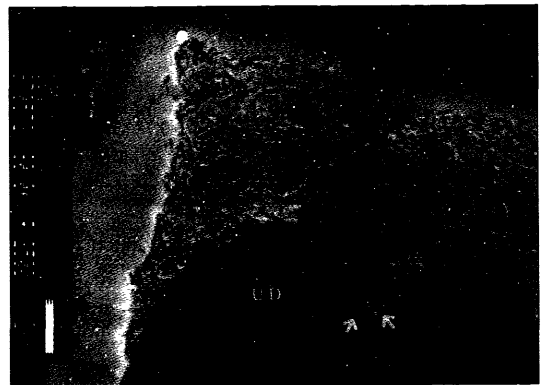


Fig. 4 a

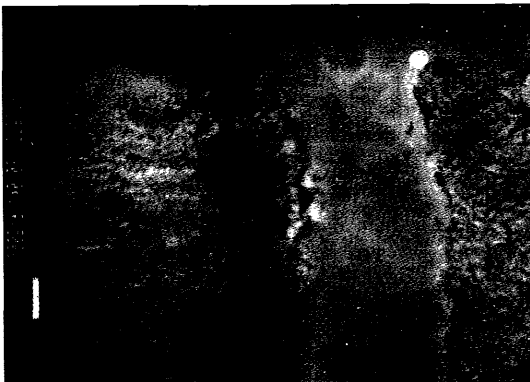


Fig. 4 b

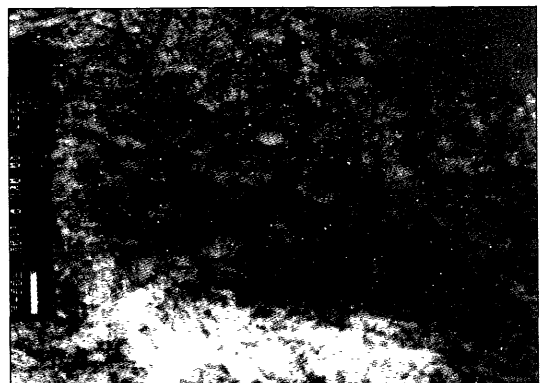


Fig. 4 c

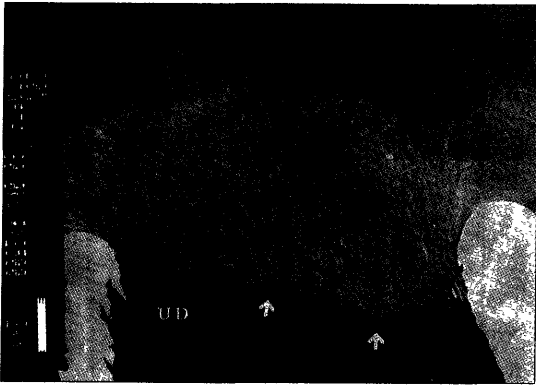


Fig. 5 a

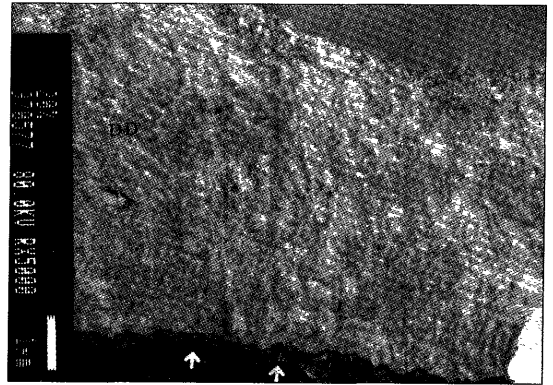


Fig. 5 b

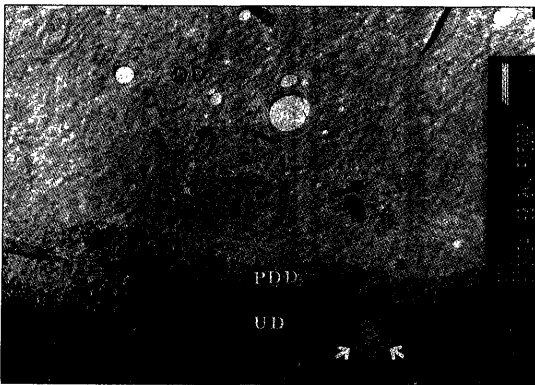


Fig. 5 c

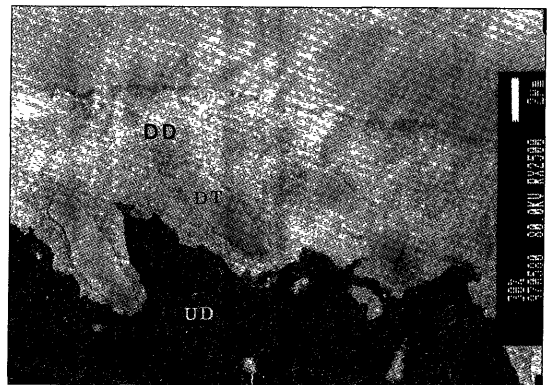


Fig. 6 a

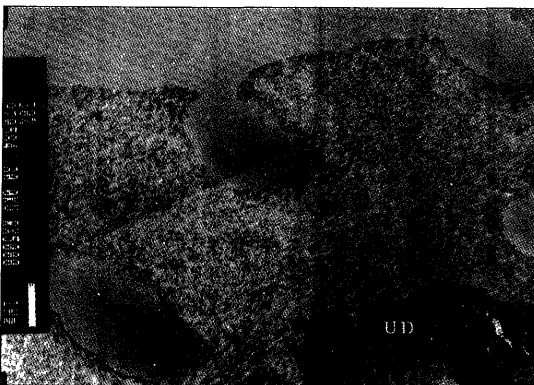


Fig. 6 b

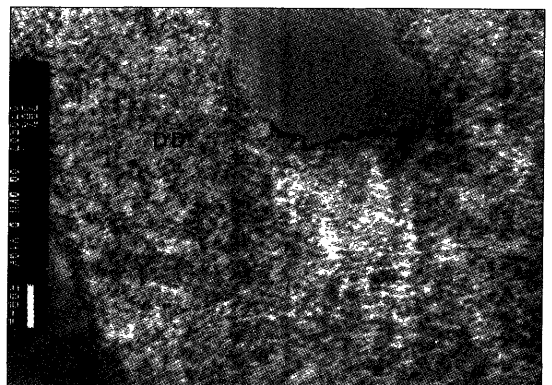


Fig. 6 c

사진부도 3

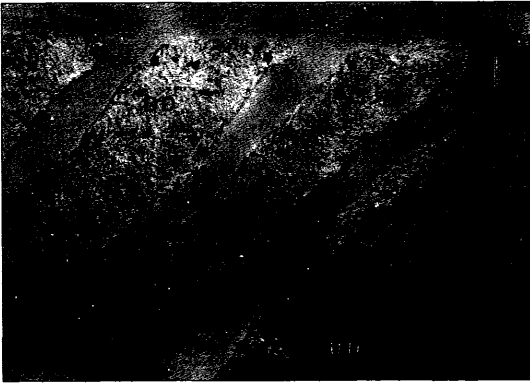


Fig. 7 a

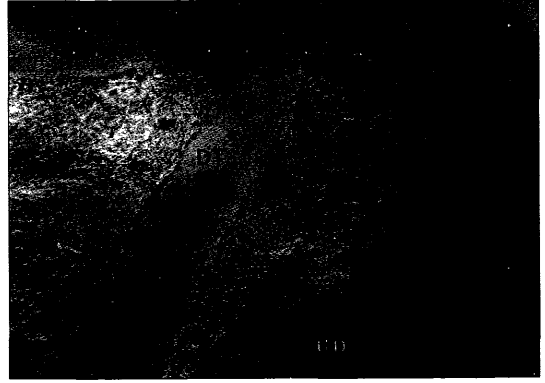


Fig. 7 b

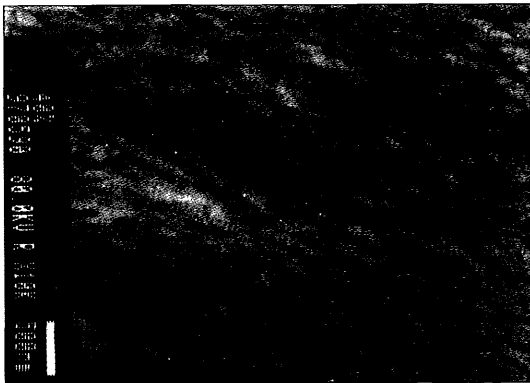


Fig. 7 c



Fig. 8 a



Fig. 8 b

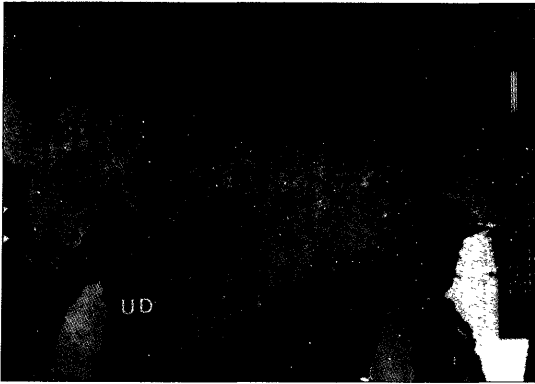


Fig. 9 a

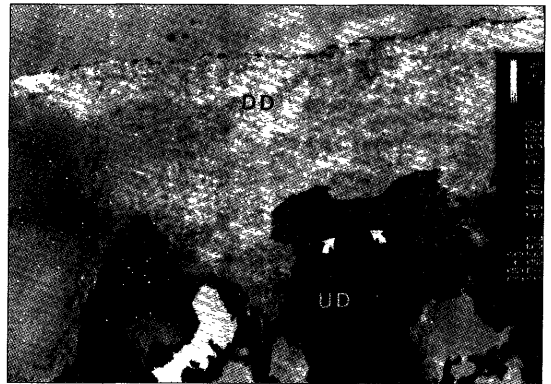


Fig. 9 b

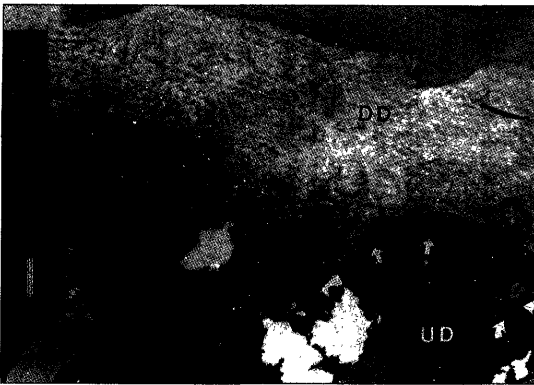


Fig. 10 a

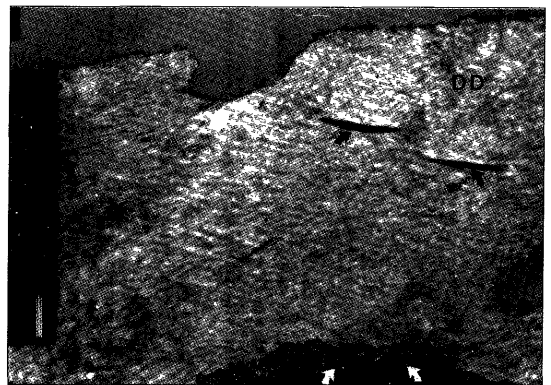


Fig. 10 b



Fig. 11 a

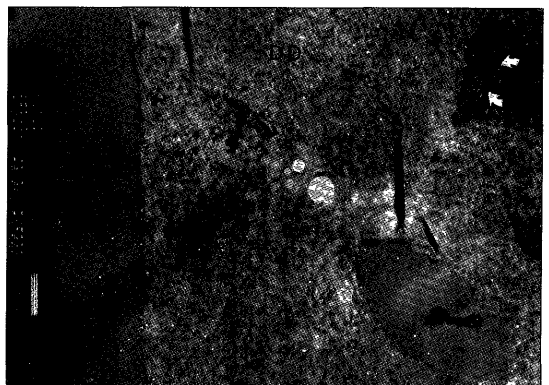


Fig. 11 b