

공초점레이저주사현미경을 이용한 심미수복재와 상아질의 접착계면에 관한 연구

박병철 · 조영곤 · 문주훈
조선대학교 치과대학 치과보존학교실

ABSTRACT

A CONFOCAL LASER SCANNING MICROSCOPIC STUDY ON THE INTERFACE BETWEEN TOOTH COLORED RESTORATIVE MATERIALS AND DENTIN

Byung-Chul Park, D.D.S., Young-Gon Cho, D.D.S., M.S.D., Ph.D.,
Joo-Hoon Moon, D.D.S., M.S.D., Ph.D.,
Department of Conservative Dentistry, College of Dentistry, Chosun University

The purpose of this study was to evaluate on the interfacial morphology between dentin and restorative materials.

In this *in vitro* study, the cavity wall restored with 3 different kinds of tooth colored restorative materials (resin-modified Glass Ionomer cement (Fuji II LC), composite resin (Z-100), compomer (Dyract)). The thirty extracted human molar teeth without caries and/or restorations are used. The experimental teeth were randomly divided into three groups of ten teeth each. In each group, Wedge shaped cavities (width: 3mm, length: 2mm, depth: 1.5mm) were prepared at the cemento-enamel junction on buccal and lingual surfaces. The adhesive of composite resin were mixed with rhodamine B. Primer of composite resin, Prime & Bond 2.1 of Dyract and liquid of Fuji II LC were mixed with fluorescein. In group 1, the cavity wall was treatment with dentin conditioner, and then restored with Fuji II LC. In group 2, the cavity wall was treatment with Prime & Bond 2.1 and then restored with Dyract.

In group 3, the cavity wall was etching with 10% maleic acid, applied with primer and bonding agent and then restored with Z-100.

The interface between dentin and restorative materials was observed by fluorescence imaging with a confocal laser scanning microscope.

The results were as follows :

1. In Glass ionomer group, adaptation of resin modified Glass-ionomer restoration against cavity wall is tight, but the crack formed inside of restoration were observed.
2. In Dyract group, the penetration of resin tag is shorter and the width of hybrid layer is narrower than composite resin group.
3. In Z-100 group, primer penetrated deeply through dentinal tubule. Also bonding agent was penetrated along the primer, but the penetration length is shorter than primer part, and in 3-D image, the resin tag is conical shape and lateral branch is observed

Key Words : Confocal Laser Scanning Microscope, Resin-modified Glass Ionomer cement Composite resin, Compomer

I. 서 론

최근 심미치료에 대한 욕구의 증가와 접착치의학의 발달로 심미수복재에 대한 관심이 증가하여 치아의 삭제량이 적고 치질에 접합되면서 심미성이 우수한 글래스 아이오노머 시멘트, 복합레진, 콤포머 등의 접착성 심미수복재가 개발되어 임상에 이용되고 있다.

심미수복재중 복합레진에 대한 연구로 total etch 술식, 혼화층과 습윤접착의 개념이 확립된 4세대 상아질 접착제가 개발되어 상아질에 대한 복합레진의 접착이 향상되었으며, 최근에는 복잡한 술식을 단순화시키고 술자의 숙련도에 대한 민감성을 감소시키는 방법의 일환으로 5세대 단일용기의 상아질 접착제가 개발되어 이용되고 있다. 한편, 복합레진과 함께 심미수복재의 한축을 이루며 발전한 글래스 아이오노머 시멘트는 치질과 직접결합하며 불소방출에 의한 재발성우식 예방등의 장점에도 불구하고 복합레진에 비해 표면 활택도와 투명도 및 물리적 성질이 낮고 산-염기 및 광중합 과정에서도 중합되지 않은 단량체가 발생되어 치수독성¹⁾이 나타나는 단점이 대두되었다. 이에 최근에는 복합레진과 글래스 아이오노머 시멘트의 장점을 포함한 재료로서 콤포머가 개발되었으며, 이는 레진 강화형 글래스 아이오노머 시멘트와 구성성분이 유사하여 레진 강화형 글래스 아이오노머 시멘트로 분류되기도 하였으나, 물성이 복합레진에 더 가까워 어두운 상태에서는 산-염기 반응이 일어나지 않아 경화가 되지 않는 것으로 알려져 있으며 또한 수분이 없는 상태에서는 산-염기 반응이 일어나지 않고 구강내의 수분과 접촉되어야 산-염기 반응이 일어나는 것으로 보고되어 레진 강화형 글래스 아이오노머 시멘트와 구분된다^{2,3)}.

접착성 심미수복재료와 상아질과의 접합성에 대한 평가 방법으로 색소침투 법 혹은 방사선 동위원소에 의한 변연누출의 측정⁴⁾ 및 치질과 수복물 사이의 수축간극의 평가⁵⁾, 상아질과의 접착강도를 측정⁶⁾ 하는 등의 다양한 연구방법이 제시되어 왔다. 상아질과의 접착에서 혼성층의 중요성이 인식되면서 주사전자현미경(SEM)과 투과전자현미경(TEM)이 혼성층을 형태학적으로 연구^{7,8)}하는데 주로 이용되었으며, 또한 혼성층과 레진 tag, adhesive lateral branch같은 형태학적 결과 뿐 아니라 결합력과의 연관성에 대한 연구도 보고된 바 있다^{7,9)}. 그러나 주사전자현미경을 이용시, 시편 제작 과정이 복잡하여 변형이 일어날 수 있고 관찰면이 표면에 국한된다는 단점이 있어 최근에는 시편 제작과정 없이도 형광염료로 염색한 시편을 직접 관찰할 수 있는 공초점 레이저 주사현미경(Confocal Laser Scanning Microscope, CLSM)이 치아 경조직 연구에 도입되어, 투과전자현미경에서의 포매 과정과 주사전자현미경의 부식과정 중에 발생하는 구조변형이나 복잡한 제작과정등을 단순화 시켰다. CLSM의 장점으로는 관찰 가능한 깊이가 시편 표면하 100 μ m 정도까지이므로 시편제작 과정에서 구조가

변형될 가능성이 적으며, SEM이나 TEM에서 꼭 필요한 시편 건조 과정이 필요없어 수축의 위험이나 artifact도 줄어드는 장점이 부각되었다^{10,11)}. 치의학 영역에서 CLSM을 이용한 연구는 1987년 Watson과 Boyde¹²⁾가 CLSM과 형광 염료를 이용해서 상아질 표면에서 접착레진의 침투양상을 연구한 것을 시작으로, Duschner 등¹³⁾에 의한 수복재료와 치질 간극의 화학적, 구조적 변화양상의 관찰 및 Pioch와 Stotz 등¹⁰⁾에 의한 상아질 접착제의 접합양상의 관찰등이 보고되었으며, 최근에는 접착 시스템의 각 성분에게 다른 형광 염료를 혼합하여 연구하고 있다^{10,14,15)}. 그러나 아직까지 CLSM을 이용하여 서로 다른 접착양상을 보이는 심미수복재를 비교한 연구는 많이 보고되지 않고 있는 실정이다.

이에 본 연구에서는 서로 다른 상아질과의 접착양상을 보이는 3가지 심미충전재인 레진강화형 글래스 아이오노머 시멘트(Fuji II LC)와 콤포머(Dyract), 복합레진(Z-100)으로 5급와동을 수복한 후, 수복재와 상아질과의 접합양상, 혼성층 및 레진 tag의 침투양상등을 규명하고자 상아질과 수복재료간의 계면을 공초점레이저주사현미경으로 관찰하여 다소의 지견을 얻었기에 이에 보고하는 바이다.

II. 실험재료 및 방법

1. 실험재료

치경부에 우식병소, 마모증 및 미세균열이 없는 발거된 30개의 대구치를 대상으로 발치시의 손상여부를 확인한 후, 각기 서로 다른 결합양상을 보이는 심미수복재 즉, 레진 강화형 글래스 아이오노머 시멘트인 Fuji II LC (GC, CO., Japan), 단일용기의 Prime & Bond 2.1을 사용하는 콤포머 제재인 Dyract(Dentsply, Co., Germany), 그리고 복합용기의 상아질 접착제인 Scotchbond Multipurpose Plus system을 사용하는 복합레진인 Z-100(3M, Co., U.S.A.)을 사용하였다 (Table 1).

CLSM관찰을 위해 사용된 형광 염료로는 Fluorescein[®] (Sigma Aldrich Co., U.S.A.)과 Rhodamine B[®](Sigma Aldrich Co., U.S.A.)가 사용되었다.

2. 실험방법

1) 시편 제작

치경부에 우식병소, 마모증 및 미세균열이 없는 발거된 30개의 대구치를 실험 전까지 생리식염수에 침수시켜 냉장 보관 하였다. 이 치아들의 협,설면 중앙부의 백악법랑 경계부에 Chamfer형의 다이아몬드 bur를 사용하여 Wedge형태의 5급 와동을 형성하였다. 각 와동의 교합-치는 폭경은 2mm, 근원심 폭경은 3mm, 축벽의 깊이는 1.5mm가 되도

Table 1. Tooth colored restorative materials used in this study

Product	Component	Composition	Manufacturer
Fuji II LC	Dentin conditioner	Polyacrylic acid	GC ,JAPAN
Z-100 (Scotchbond Multi-purpose Plus system)	Etchant	10% maleic acid	
	Primer	HEMA, Copolymer of polyalkenoic acid	3M Dental U.S.A.
	Adhesive	Bis-GMA, HEMA	
Dyract	Prime & Bond 2.1	PENTA, TEGDMA, urethane-modified Bis-GMA aceton	Dentsply, Germany

록 하였다. 외연우각은 직각이 되도록 하였으며, 교합면측 변연은 법랑질에, 치은측 변연은 상아질 또는 백악질에 위치시켰다. 사용하는 재료에 따라서 30개의 치아를 10개씩 무작위로 3개의 군으로 나누었다. A3 색조의 3가지 심미수복재를 각 제조 회사의 지시대로 상아질을 처리하고 충전한 후 광조사기(XL 3000, 3M Dent. Prod., U.S.A.)를 이용하여 광중합 하였다. 각 군의 분류는 다음과 같다.

군 분류

가) 실험 1군 (Fuji II LC군)

5급 와동면을 상아질 표면처리제로 20초간 처리하고, 약간 습기가 있도록 가볍게 건조시킨 후, 0.7%g/μl (0.0005g/70μl)농도의 Fluorescein을 첨가한 액과 분말을 함께(2 drop : 1 scoop)혼합하여, 와동내에 주입기를 이용하여 충전한 후 20초간 광중합하고 마무리 및 연마를 하였다.

나) 실험 2군 (Dyract 군)

5급 와동면을 완전수세후 과량의 수분만 제거하고 0.7% g/μl (0.0005g/70μl) 농도의 Fluorescein을 Prime & Bond 2.1에 혼합하여 형성된 삭제된 와동에 적용하고, 30초간 방치한후 가볍게 건조 시키고 10초간 광조사하였다. 같은 용액을 한번 더 도포한 후 즉시 건조와 함께 10초간 광중합하고 Dyract를 와동내 분할 충전 후 광중합하였다.

다) 실험 3군 (Z-100 군)

삭제된 치아의 5급 와동면을 10초간 압축공기로 건조시킨 뒤 Scotchbond Multi-Purpose etchant (10% maleic acid)로 15초간 산 처리를 하였다. 15초간 수세하고 5초간 과량의 수분만 제거한 후 0.7%g/μl (0.0005g/70μl)농도로 Fluorescein을 접착 강화제에 첨가하여 와동에 충분히 도포한 후 공기로 가볍게 건조를 시켰다. 접착레진에는 같은 농도비의 Rhodamine B를 첨가하여 치아에 균일한 층으로 적용한 후 10초간 광중합을 실시하고, Z-100 복합레진을 와동내에 적층 충전 후 40초씩 광중합 하였다.

2) 접착계면양상의 공초점레이저주사현미경 관찰

협, 설측의 와동이 수복된 30개의 치아를 교정용 레진에 매몰하여 Diamond Wheel Saw(South Bay Technology Co., U.S.A.)를 이용하여 치아 장축 방향으로 수복된 와동의 중앙부위에서 이분하여 절단시, 협측과 설측의 수복재가 하나의 절편에서 모두 관찰되고 상아세관의 주행방향과 일치하도록 방향을 잡아 절단하였다. 150~200μm 정도의 후경을 지닌 절편을 제작하고 연마기에서 SiC grit 800까지 연마하여 후경이 100μm 이하인 시편을 제작하였다. 시편을 공초점레이저주사현미경(Leica TCS NT, Germany)으로 관찰하기 위해 슬라이드 유리상에 canadabalsam액을 사용하여 커버 글래스로 시편을 고정시켰다. 준비된 시편을 CLSM으로 관찰할 때까지 시편내부 형광염료의 형광성이 저하되는 것을 막기 위하여 시편을 빛이 차단된 곳에 보관하였다. CLSM에서 형광 염료가 확산된 양상을 관찰하기 위해 각 형광 색소를 구별할 수 있도록 Fluorescein은 488nm excitation filter와 520nm pass(barrier) filter를 사용했고 rhodamine B는 543nm excitation filter와 600nm pass filter를 사용하였다. Oil immersion objective는 63 배율을 사용하였으며, numerical aperture는 1.0이었다. CLSM 관찰시 표본의 표면에서부터 1μm 간격으로 16개의 optical section을 실행하여 disk에 저장하였다. 저장된 광학적 절편을 각 층별로 조사하여 삼차원 상을 형성하고 Picrography 3000 현상기(Fujix. co., Japan)를 사용하여 출력하였다.

Ⅲ. 실험결과

1. 실험 1군 (Fuji II LC 군)

상아질과의 계면에서 긴밀한 접합양상과 글래스 아이오노머 시멘트와 치질사이에 입자가 없이 미약하게 형광처리된 1~2μm 직경의 Interdiffusion layer가 관찰되었으며 (Fig. 1), 상아질과 부분적인 결합을 유지한 상태의 crack이 관찰되었다 (Fig. 2, 3).

2. 실험 2군 (Dyract 군)

Dyract군의 접합양상은 실험 3군 (Z100군)과 유사하나 3~4 μ m 직경의 혼성층과 함께 10~15 μ m 길이의 레진 tag가 상아세관내로 연장된 양상을 관찰할 수 있었다 (Fig. 4, 5, 6).

3. 실험 3군 (Z-100 군)

접착강화제와 접착레진이 상아세관을 따라 확산되어 상아세관내로 침투하였으며 (Fig. 7, 8), 4~5 μ m 직경의 혼성층과 20 μ m 길이의 레진 tag가 상아세관내로 균일하게 침투된 양상을 관찰할 수 있었다 (Fig. 9).

Double labelling으로 형광처리한 3차원 영상에서 원추형의 레진 tag가 침투된 양상과 부분적으로 상아세관에서 측방으로 연장된 레진 tag 분지를 관찰할 수 있었다 (Fig. 10)

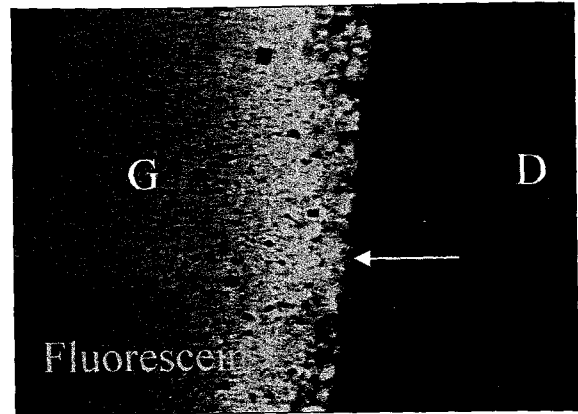


Fig. 1. Fuji II LC와 상아질과의 계면에서 긴밀한 접합양상과 입자가 없이 약하게 형광처리된 1~2 μ m 직경의 Interdiffusion layer 양상.

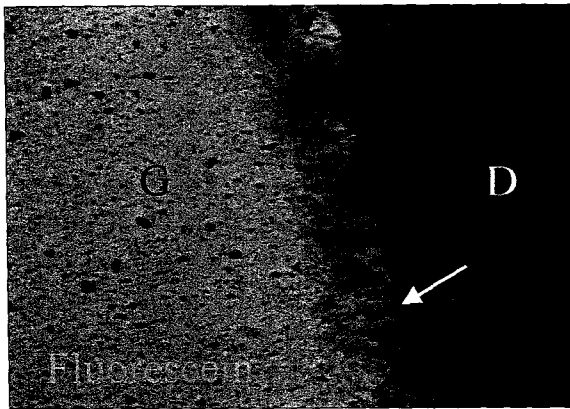


Fig. 2. 상아질과의 부분적인 결합을 유지한 상태의 Fuji II LC내 crack 양상.

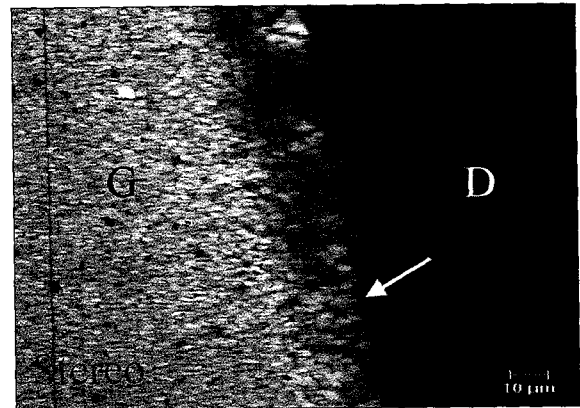


Fig. 3. Fig 2를 16등분으로 광학적절단하여 입체적으로 배열한 모습.

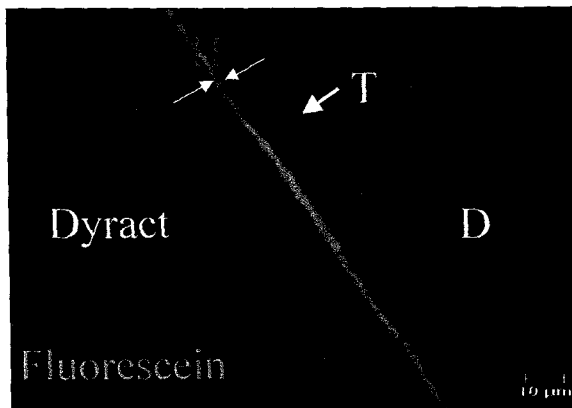
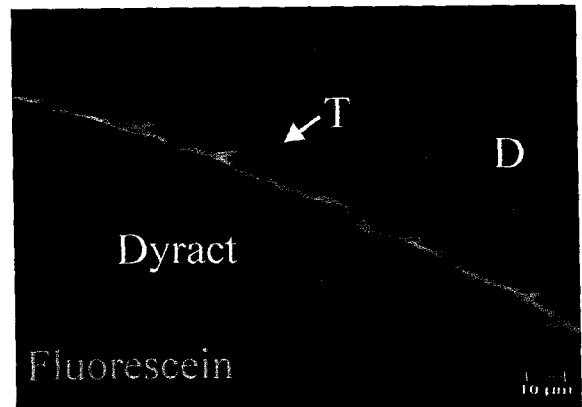


Fig. 4. 5 Dyract와 상아질과의 계면에서 3~4 μ m 직경의 혼성층과 10~15 μ m 길이의 레진 tag가 상아세관내로 연장된 양상.



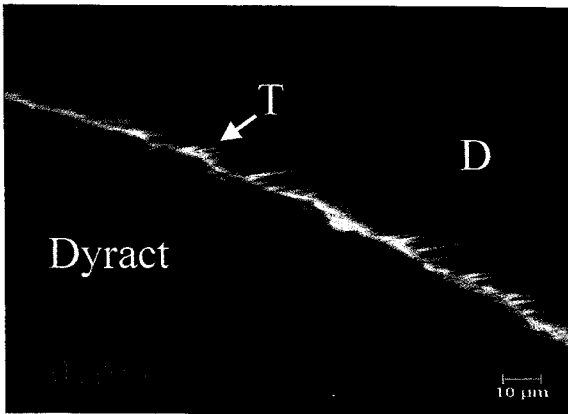


Fig. 6. Fig. 5를 16등분으로 광학적절단하여 입체적으로 배열한 모습.

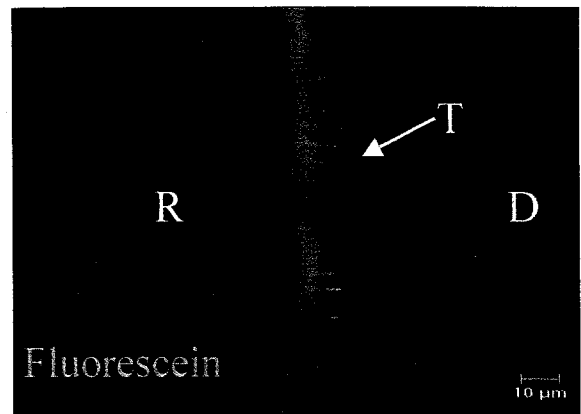


Fig. 7. Z-100과 상아질과의 계면에서 fluorescein을 혼합하여 적용된 접착강화제의 균일한 상아세관내 침투양상.

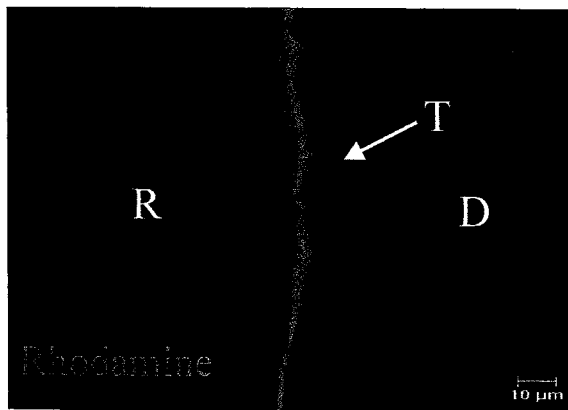


Fig. 8. Z-100과 상아질과의 계면에서 Rhodamine B를 혼합하여 적용된 접착레진이 접착강화제를 따라 확산된 상과 레진 tag의 상아세관내 침투양상.

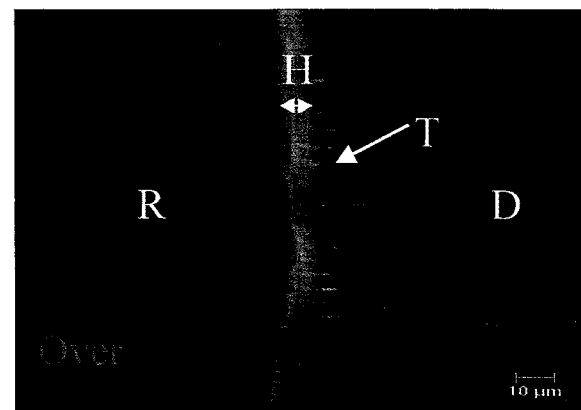


Fig. 9. Fig. 7, 8을 overlap시킨 사진.-상아세관내로 침투된 레진 tag의 모습과 혼성층 양상.

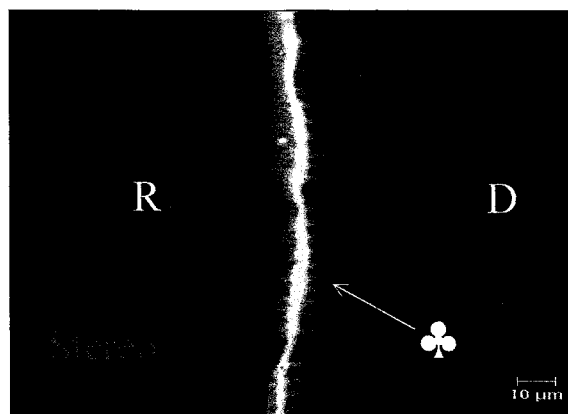


Fig. 10. Fig. 8, 9를 16등분으로 광학적 절단하여 입체적으로 배열한 모습. - 레진 tag의 측방분지 양상.

IV. 총괄 및 고안

상아질-수복재 계면의 형태학적 연구는 주로 주사전자현미경(SEM)이나 투과전자현미경(TEM)을 이용하였으나, SEM과 TEM은 시편 제작과정이 복잡하고 관찰면이 표면에만 국한되는 단점이 있어, 최근에는 광원인 laser와 detector의 초점을 시료의 한 지점에 동시에 맞추는 원리를 이용한 공초점레이저주사현미경(CLSM)이 개발되어 치의학분야에 이용되고 있다. CLSM은 광원으로 레이저선을 이용하므로 정교한 초점을 쉽게 형성할 수 있고 표본 내부로 투영되어 표본이 여러개의 얇은 단면으로 주사될 수 있다. 또한 주사된 빛이 사진 증폭관에 분석되어 고감도의 수상기에서 상을 형성한 후, 컴퓨터 프로그램에 의하여 초점 바깥의 상은 모두 제거되고 초점에 맞는 상만이 나타나 해상력이 매우 높은 선명한 상을 관찰할 수 있으며, 광학적 절편을 이용함으로써 선명한 상과 입체적인 구조의 상을 얻을 수 있다는 장점이 있다¹⁶⁻¹⁸⁾.

CLSM은 주로 세포생물학, 신경생리학¹⁶⁾ 등에 이용되고 있으나 최근에는 치아경조직 연구에 응용되므로써, 1987년 Watson과 Boyde¹²⁾가 CLSM과 형광염료를 이용하여 상아질 표면에서 접착레진의 움직임 연구한 것을 시작으로, Maseki 등¹⁹⁾은 CLSM과 SEM으로 혼성층의 후경을 비교, 관찰하여, 혼성층의 후경에 유의한 차이가 없어 CLSM은 혼성층의 관찰과 레진 tag의 길이측정에 유용한 방법임을 보고한 바 있다. 또한 Pagliari 등²⁰⁾은 글래스 아이오노머와 같이 수분과 탈수에 민감한 재료를 관찰할 때는 시편제작과정중 발생하는 구조적 변형을 최소화시킬 수 있어 재료의 접합양상의 관찰에 적합한 방법임을 제시하여, 현재 상아질-레진 계면 이외에 우식 상아질, 불소가 침착된 법랑질, 치아 경조직 형성시 시간의 경과에 따른 변화관찰등에 이용되고 있다.

이에 본 연구에서는 각기 서로 다른 상아질과의 접착양상을 보이는 레진 강화형 글래스 아이오노머 시멘트, 콤포머, 복합레진으로 5급와동을 수복한 후 상아질-수복재간의 계면을 CLSM으로 관찰하여 수복재와 상아질과의 결합양상, 혼성층과 레진 tag의 침투양상을 규명하고자 하였다.

글래스 아이오노머 시멘트는 치질에 화학적, 미세기계적 결합²¹⁾을 하는데, 치아의 수산화 인회석내 칼슘이온과 시멘트내의 카복실기가 이온결합을 통해 치질과 직접 결합을 하며, polyacrylate 이온이 수산화 인회석 표면의 인산염과 칼슘이온을 대체하고, 대체된 이온은 치면과 인접한 재료내에서 ion-enriched layer를 형성²²⁾하고 이 층이 일차적 결합기전²³⁾으로 간주되고 있다. 본 실험에서 글래스 아이오노머 시멘트와 상아질은 긴밀한 접합양상과 1~2 μ m의 입자가 관찰되지 않는 미약한 형광양상의 Interdiffusion layer가 관찰된 바(Fig. 1), 글래스 아이오노머와 상아질과의 CLSM을 이용한 계면관찰에서 label된 글래스 아이오노머

로부터 형광신호가 계면에서 감소하며 이는 상아질 안으로 fluorophore이동의 증거라고 보고한 Watson²⁴⁾의 보고 및 치아와 글래스 아이오노머 시멘트 사이에 이온이 풍부한 중간층이 형성되고 이 중간층으로 치아의 이온이 확산된다고 보고한 Causton과 Johnson²⁵⁾에서와 유사한 양상을 보였다. 본 실험에서 사용한 Fuji II LC는 레진 단량체인 HEMA를 함유하여 레진기질과 글래스 아이오노머 기질간에 interpenetration network를 형성하므로써 물성이 향상되고 상아질과의 긴밀한 접합양상을 보인 것으로 생각된다. 또한 본 실험에서 관찰된 Interdiffusion layer는 결합강도의 증진 및 미세누출의 감소에 영향을 끼치며^{26,27)}, 이 층에 대한 형태학적 및 기능적인 연구가 계속되어야 할 것으로 사료되며, 글래스 아이오노머 시멘트 내부의 crack 양상은(Fig. 2, 3) 상아세관액의 이동에 의한 글래스 아이오노머 성분의 강도 감소²⁸⁾ 때문인것으로 추정된다.

콤포머가 개발된 목적 중 하나는 치아 표면에 산 처리를 하지 않고서도 치질과의 충분한 결합강도를 얻기 위함이며, 콤포머에 요구되는 경화반응은 산성 단량체의 중합으로서 글래스 아이오노머의 산-염기반응과 비슷한 이온반응이 장기간 계속된다²⁹⁾.

본 실험에 이용된 Dyract의 조성은 COOH군을 함유한 단량체와 결합계면에서 발생하는 응력에 대한 완충제로 elastomeric resin을 포함하고 있다³⁰⁾. 상아질 처리제로서 함께 사용하는 제 5세대 상아질 접착제 "Prime & Bond 2.1"의 성분중 PENTA는 약 산성의 자가부식 접착강화제로 작용하며, 이는 도말층 하방의 유기 및 무기성분에 친화성을 지닌 친수성 단량체의 상아질내 침투를 용이하게 하므로써 변형된 도말층과 상아질 기질간의 접착을 촉진 시키며⁸⁾, 소량의 수분과 아세톤의 첨가로 습윤 상아질내 수분이 아세톤의 증기압에 의해 외측으로 분산 또는 휘발된 자리에 접착레진이 확산되어 들어가 결합에 기여하는 것으로 알려졌다³¹⁻³³⁾. 본 실험에서, Dyract군의 접합양상은 복합레진군의 양상과 유사하였으나 혼성층의 후경이 더 좁았으며 레진 tag의 침투길이는 더 짧게 관찰되었다(Fig. 4~6). 이는 접착강화제가 표층상아질을 탈회하여 상아세관을 개방시키며, 관상상아질에 혼합 확산층을 형성해 자가부식능력과 상아질의 확산층을 형성한 결과³⁴⁾로 사료되나, 자가 산부식 접착강화제 도포 후 산 성분이 일정시간이 지나 탈회과정에서 용출된 칼슘과 인산이온에 의해 중화되어 인회석의 용해가 억제되고 탈회가 제한되므로 본 실험에서 복합레진군과 비교시 형광발현되는 혼성층이 더 얇고 레진 tag의 길이가 더 짧게 나타난 것으로 생각된다.

본 연구의 복합레진(Z-100)군에서는 접착강화제와 접착레진의 상아세관내 침투와 레진 tag가 길게 연장된 양상을 관찰되었다(Fig. 9). 본 연구에서 상아질 결합제로 사용된 Scotchbond Multipurpose plus는 10% 말레릭산으로 상아질면을 처리하여 상아세관 뿐 아니라 표면이 탈회된 공간

상아질 내로 친수성 단량체인 접착강화제가 침투하므로써 10 μ m 내외의 표면상아질과 결합하는 것으로 보고된 바 있다^{17,35-37}. 특히 HEMA와 polyalkenoic acid의 수용액으로 구성된 접착강화제가 세관을 폐쇄하지 않고, 상방의 접착레진이 상아세관을 폐쇄하는 양상을 관찰할 수 있었다(Fig. 7, 8). 이는 HEMA가 단량체의 확산을 증진시키고 상아질의 성분과 얽혀 혼성층의 형성을 촉진한다고 한 Palaghias 등³⁴의 보고와 일치하였다. 또한 Pioch 등²⁸은 CLSM을 이용하여 상아질접착제와 상아질과의 계면을 관찰하여 혼성층의 두께가 3~5 μ m라 하였으며, 본 연구에서도 두가지 형광시약으로 double labelling을 시행하여 상을 overlap 시킨 결과, 상아세관 내로 침투한 레진 tag와 수복재와 상아질 사이에 형성된 4~5 μ m 두께의 혼성층이 관찰되었다(Fig. 10).

본 연구에서 double labelling으로 형광 처리한 3차원 영상에서 원추형모양의 tag가 상아질내로 뚜렷하게 침투된 양상과 부분적으로 상아세관에서 측방으로 연장된 분지를 관찰할 수 있었다(Fig. 10). 이는 산부식된 상아질에서 접착강화제가 개방된 상아세관을 침투하고 측방으로 인접한 관상상아질 까지 작은층으로 침투함을 보고한 Pioch 등⁴의 CLSM 소견과 유사하였다. 반면 레진 tag의 침투양상이 같은 시편내에서도 비정상적으로 길게 연장된 부분이 관찰된 바, 형광 염료와 재료간의 화학적인 혼합이 아닌 단순혼합 때문으로 추정되며, 세관내로 침투되었으나 형광발현이 미약한 경우도 있었을 것으로 사료된다.

CLSM 관찰을 위해 접착강화제나 접착레진 혹은 액에 일정한 농도의 형광물질을 혼합하여야 하며, 본 연구에서는 적은 양의 형광시약으로 분명한 상을 얻을 수 있는 적절한 농도로 0.7%g/ μ (0.0005g/70 μ)를 채택하였다. 그러나 서로 다른 용액의 조성으로 인하여 균일한 혼합이 어려워 동일시편에서 형광의 발현정도가 다른 부위가 나타나고 시편의 절단방향에 따라 상아세관의 주행방향이 틀어져 절단면에서 수복물과 상아세관의 일정한 주행모습의 상을 얻는데 어려움이 있었다. 또한, CLSM 관찰시 형광 염료가 주위의 수복물로 스며드는 능력과 접착레진 표면의 미중합 oxygen inhibition layer와의 혼합효과⁴등을 유의해야 할 것이다.

이상과 같이 CLSM은 심미수복재와 치질의 접착양상을 연구하는데 있어 많은 정보를 제공해 줄 수 있으며 특히 접착강화제와 접착레진의 분포를 분리하여 관찰하는 것을 가능하게 해 재료의 어떤 성분이 레진 tag와 혼성층 형성에 주로 관여하는지를 결정하는데 도움을 줄 수 있어, 향후 치아의 연조직, 경조직의 연구뿐 만 아니라 상아질접착제 성분변화에 따른 상아질-레진 계면의 변화같은 형태학적 연구에 있어 SEM, TEM과 함께 유용하게 사용될 수 있으며 이에 대한 더 많은 연구가 필요 할것으로 사료된다.

V. 결 론

레진강화형 글래스 아이오노머 시멘트 (Fuji II LC), 콤포머 (Dyract), 복합레진 (Z-100)과 상아질의 접합도, 혼성층 및 레진 tag의 침투양상을 규명하기 위해, 발거된 대구치의 협,설면에 5급 와동을 형성한 후 접착강화제, 접착레진, 글래스 아이오노머 시멘트 액에 형광 염료(fluorescein, rhodamine B)를 혼합·적용하고 각각의 재료로 수복하였다. 100 μ m 이하의 시편을 제작하고 공초점레이저주사현미경 (Confocal Laser Scanning Microscope, CLSM)으로 수복물과 상아질간의 접착계면을 관찰하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 실험 1군(Fuji II LC 군)에서, 상아질에 대한 접합도는 우수하였으나 내부에 균열이 관찰되었다.
2. 실험 2군(Dyract 군)은 실험 3군(Z-100 군)에 비해 더 작은 직경의 혼성층과 짧은 레진 tag 양상을 보였다.
3. 실험 3군(Z-100 군)에서 접착강화제는 상아세관을 따라 침투하였으며, 접착레진의 레진 tag 양상은 접착강화제보다 짧은 원추형 모양이었으며 측방으로 분지가 관찰되었다.

이상과 같이 치아-수복재 계면의 관찰에 있어 CLSM의 사용은 서로 다른 접착 기전을 가진 여러 가지 심미수복 재료의 접합양상을 관찰하는데 다른 방법과 더불어 유용하게 사용될 수 있을 것으로 사료된다.

참 고 문 헌

1. Wilson AD : Resin-modified glass ionomer cement. Int J Prothet. 3:425-429, 1990.
2. 김진용, 홍찬희 : Compomer 의 치면처리방법에 따른 전단결합 강도에 관한 연구. 대한치과보존학회지 Vol 23 (1) :247-255, 1998.
3. 정현숙, 이희주, 허복 : 상아질표면처리에 따른 글래스아이오노머 및 Compomer의 전단결합강도의 비교. 대한치과보존학회지 Vol 24(2) :416-425, 1999.
4. Spencer P, Byerley TJ, Witt JD : Chemical characterization of the dentin/adhesive interface by fourier transform infrared photoacoustic spectroscopy. Dent Mater. 8 :10-15, 1992.
5. Uno S, Finger WJ : Function of the hybrid zone as stress-absorbing layer in resin-dentin bonding. Quint Int. 26 :733-738, 1995.
6. Gwinnett AJ, Tay FR, Pang KM : Quantitative contribution of the collagen network in dentin hybridization. Am J Dent. 9 :140-144, 1996.
7. Ferrari M, Davison CL : In vivo resin-dentin interdiffusion and tag formation with lateral branches of two adhesive systems. J Prosthet Dent. 76 :250-253, 1996.
8. Van Meerbeek B, Inokishi S, Braem M, Lambrechts P, Vanherle G : Morphological aspects of the resin-dentin interdiffusion zone with different dentin adhesive systems. J Dent Res. 71 :1530-1540, 1992.
9. Kabasawa M, Ejiri S, Hanada K, Ozawa H : Histologic Observations of Dental Tissues Using the Confocal Laser

- Scanning Microscope. *Biotech and Histoche.* 70 :66-69, 1996.
10. Pioch T, Stotz S, Staehle HJ, Duschnber H : Applications of Confocal Laser Scanning Microscopy to dental bonding. *Adv Dent Res.* 11 :453-461, 1997.
 11. Watson TF : Application of confocal scanning optical microscopy to dentistry. *Brit Dent J.* 9 :287-291, 1991.
 12. Watson TF, Boyde A : The use of fluorescent markers for studying the distribution of a dentin bonding agent between a composite restoration and tooth. *Clin Mater.* 2 :45-53, 1987.
 13. Duschner H, Ernst CP, Rauscher M : Advance techniques of micro-analysis and confocal microscopy. *Adv Dent Res.* 9(4) :355-362, 1995.
 14. 최낙원, 조병훈, 손호연 : 상아질-레진 계면의 공초점 현미경적 형태 및 전단결합강도와의 관계. *대한치과보존학회지* Vol 24 (2):310-321, 1999.
 15. Schu P, Krejci, I, Lutz F : Dentin bonding effect of tubule orientation on hybrid layer formation. *Eur J Oral Sci.* 105 :344-352, 1997.
 16. Deitch JS, Smith KL, Swann JH, Turner J : Ultrastructural investigation of neurons identified and localized using the confocal scanning laser microscope. *J Electromicroscopy Technique.* 18 :82-90, 1991.
 17. Green CR, Peter NS, Gourdie RG, Rothery S, Sever NJ : Validation of immunohistochemical quantification in confocal scanning microscopy : A comparative assessment of gap junction size with confocal and ultrastructural techniques. *J Histochem Cytochem.* 41(9) :1339-1349, 1993.
 18. Mossberg K, Arvidsson U, Ulfhake B : Computerized quantification of immunofluorescence-labeled axon terminals and analysis of colocalization of neurochemicals in axon terminals with a confocal laser microscope. *J Histochem Cytochem.* 38(20) :179-190, 1990.
 19. Maseki T, Suda S, Okuyama C : Observation of the resin-dentin interface using CLSM. *IADR Nice.* #1435, 1998.
 20. Watson TF, Pagliari D : Confocal microscopic observation of structural changes in glass-ionomer cements and tooth interface. *Biomaterials.* 19 :581-588, 1998.
 21. Uno S, Finger WJ : Effect of cavity design on microleakage of resin-modified glass ionomer restorations. *Am J Dent.* 10 :32-35, 1997.
 22. Wilson AD, Kent BE : A new translucent cements for dentistry, the glass ionomer cement. *Brit Dent J.* 132 :133-135, 1972.
 23. Mount GJ : Adhesion of glass-ionomer cement in the clinical environment. *Oper Dent.* 16 :141-148, 1991.
 24. Watson TF : A Confocal microscopic study of some factors affecting the adaptation of a light-cured glass ionomer to tooth tissue. *J Dent Res.* 69(8) :1531-1538, 1990.
 25. Causton BE, Johnson NW : The role of diffusible ionic species in the bonding of carboxylate cements to the dentine: an in vitro study. *J Dent Res.* 58 :1383-93, 1979.
 26. Adballa AI, Alhadainy HA, Garcia-Godoy F : Clinical evaluation of glass ionomers and compomers in class V caries lesion. *J Dent Res.* 10 :18-20, 1997.
 27. Garcia-Godoy F, Rodriguez M, Barberia E : Dentin bond strength of fluoride-releasing materials. *Am J Dent.* 9 :80-82, 1994.
 28. Mathis RS, Ferracane JL : Properties of glass ionomer/resin-composite hybrid material. *Dent Mat.* 5 :561-563, 1993.
 29. Lavis JF, Makinson OF : Changes to Dyract restorative resin immersed in various media. *Am J Dent.* 10 :133-136, 1997.
 30. Abate PF, Bertacchini SM : Adhesion of compomer to dental structure. *Quint Int.* 28 :509-512, 1997.
 31. Gwinnett AJ : Micromorphology of the bonded dentin interface and its relationship to bond strength. *Am J Dent.* 5 :73-77, 1992.
 32. Kanka J : Effect of resin primer solvents and surface wetness on resin composite bond strength. *Am J Dent.* 5 :213-215, 1992.
 33. Leinfelder KF : Current developments in dentin bonding systems: major progress found in today's products. *JADA.* 124(50) :40-42, 1993.
 34. Palaghias G, Kakaboura A, Eliasdes C : Bonding mechanism of compomer restoratives with dentine. *J Dent Res.* 76 :1145, 1997.
 35. Erickson RL : Surface interactions of dentin adhesive materials. *Operative Dent.* (Supplement 5) :81-94, 1992.
 36. Nakabayashi N, and Takarada K. : Effects of HEMA on bonding to Dentin. *Dent Mater.* 3 :125-130, 1992.
 37. Nakabayashi N, Saimi Y : Bonding to intact Dentin. *J Dent Res.* 75 :1706-1715 1996.