

나노 하이드록시아파타이트를 첨가한

치면열구전색제의 탈회 저항성

연세대학교 대학원

치 의 학 과

이 효 설

나노 하이드록시아파타이트를 첨가한

치면열구전색제의 탈회 저항성

지도 최 병 재 교수

이 논문을 석사 학위논문으로 제출함

2008년 12월 일

연세대학교 대학원

치 의 학 과

이 효 설

이효설의 석사 학위논문을 인준함

심사위원 _____ 인

심사위원 _____ 인

심사위원 _____ 인

연세대학교 대학원

2008년 12월 일

감사의 글

논문이 완성되기까지 자상하게 지도해주신 최병재 지도 교수님께 감사를 드리며, 실험의 진행을 처음부터 끝까지 도와주신 이용근 교수님과 많은 격려를 보내주신 이제호 선생님께 감사드립니다. 아울러 관심있게 지켜봐 주신 손홍규 교수님, 최형준 교수님, 송제선 교수님과 미국에 계시지만 늘 힘이 되어주시는 김성오 교수님께 감사드립니다. 그리고, 제가 치과 대학에 입학해서부터 지금까지 늘 도움을 주시는 담임반 유형석 교수님께도 깊은 감사드립니다.

실험과 논문 작성 중 많은 도움을 준 소아치과 의국원 모두와 치과재료학 교실의 이병현 선생님께 감사드립니다. 특히, 늘 곁에서 함께 있는 것만으로도 힘이 되어 주는 고마운 김지희 선생님, 같은 진료 공간에서 오래동안 동고동락하며 관심과 도움을 보내주신 홍은혜 선생님, 김승혜 선생님께 감사드립니다.

마지막으로 한없는 사랑과 믿음으로 저를 이 자리에 세워주신 부모님과 시부모님께 감사드립니다. 그리고, 늘 든든하게 흔들리지 않고 저를 지켜주는, 가장 사랑하는 친구이자 반려자인 정인에게 사랑과 감사의 마음을 전합니다.

2008년 12월

이효설

차례

그림 및 표 차례	ii
국문 요약	iii
I. 서론	1
II. 실험 재료 및 방법	4
1. 실험 재료	4
2. 실험 방법	5
1) 표본 준비	5
2) 중합깊이	6
3) 결합강도와 주사전자현미경을 이용한 탈회면 관찰	7
4) 탈회 저항성 실험과 CLSM을 이용한 탈회면 관찰	8
5) 통계 분석	9
III. 결과	10
1. 중합깊이	10
2. 결합강도	11
3. 결합강도 측정 후 주사전자현미경을 이용한 파절면 관찰	13
4. 탈회 저항성과 CLSM을 이용한 탈회면 관찰	15
IV. 고찰	16
V. 결론	21
참고문헌	23
영문요약	27

그림 및 표 차례

Table 1.	5
Sample identification of dental fissure sealant	
Table 2.	10
Curing depth of dental fissure sealant (mm)	
Table 3.	11
Bonding strength between dental fissure sealant and enamel (mN/mm ²)	
Figure 1.	13
Fractured surface between enamel and sealant under scanning electron microscope (SEM)	
Figure 2.	14
Interface between enamel and sealant under confocal laser scanning microscope (CLSM) after demineralization	

국문요약

나노 하이드록시아파타이트를 첨가한 치면열구전색제의 탈회 저항성

치면열구전색제는 우식 감수성이 높은 치면열구를 수복하는 치과재료로써 열구를 충전하여 열구내부와 구강의 교통을 차단해 세균의 증식을 억제하고 우식을 예방한다. 우식예방효과는 우수하지만, 교합력이나 시술 시 타액에 의한 오염, 열팽창계수의 차이 등에 의해 탈락하여 이차 우식을 유발할 수 있다. 이를 보완하기 위해 하이드록시아파타이트(Hydroxyapatite, HA)를 치면열구전색제에 첨가하여 물성을 향상시키는 연구가 이루어졌다. HA는 사람의 치아 및 골조직의 주요 구성성분으로 생체친화성 및 탈회된 치아 표면의 재광화 효과를 가진다. 또한, 나노 기술을 이용하면 더 좋은 효과를 낼 수 있을 것으로 기대된다.

본 실험의 목적은 치면열구전색제에 함량을 달리하여 나노 HA를 첨가하였을 때 중합깊이, 결합강도 및 탈회 저항성의 변화를 보고자 함이다. 실험군은 Concise™ 치면열구전색제에 나노 HA를 각각 5, 10, 15, 20 %의 무게비로 첨가하였으며, 대조군은 Concise™ 이었다.

1. 치면열구전색제의 중합깊이는 대조군, nHA-5, nHA-10, nHA-15, nHA-20 순으로 감소하였고, ISO 6874:2005(E) 규정에 따른 치면열구전색제로서의 기본성질을 만족시켰으나, 통계학적으로 유의성은 없었다 ($p>0.05$).

2. 치면열구전색제의 결합강도는 나노 HA의 함량이 높아질수록 증가하였으며, 4주의 대조군과 nHA-15, 20의 사이에서 통계학적으로 유의성이 있었다($p < 0.05$).

3. 주사전자현미경으로 결합강도 측정 후 파절된 면을 관찰한 결과 법랑질과 치면열구전색제사이의 계면 파절과 치면열구전색제 내부의 응집 파절, 계면 파절과 응집 파절이 혼합된 양상이 나타났다.

4. Confocal laser scanning microscope을 이용해 4일간 탈회시킨 시편의 탈회면을 관찰하였을 때, 나노 HA의 함량이 높아질수록 탈회 구간이 더 좁게 나타났다.

이 실험에서 치면열구전색제에 나노 HA를 첨가하였을 때, 결합강도가 증가하였고, 탈회저항성이 높게 나타났다. 이런 결과를 통해 치면열구전색제에 나노 HA를 첨가할 경우 치면열구전색제의 탈락이나 이차 치아우식증을 감소시켜 치아우식증의 예방 효과를 높일 수 있을 것으로 사료된다.

핵심되는 말 : 나노 하이드록시아파타이트, 치면열구전색제, 결합강도, 탈회 저항성

나노 하이드록시아파타이트를 첨가한 치면열구전색제의 탈회 저항성

<지도교수 : 최병재>

연세대학교 대학원 치의학과
이 효 설

I. 서 론

치아의 소와열구 부위는 음식물의 축적이 쉽고 접근이 어려워 세척이 되지 않으며, 기저부가 법랑-상아질 경계부 근처에 위치하기 때문에 우식이 쉽게 발생한다. 또한, 불소에 의한 소와열구 우식증의 예방효과는 낮으므로 치면열구전색제로 소와열구 우식증을 예방하는 것이 일반적이다. 치면열구전색제는 우식 감수성이 높은 치면열구를 충전하여 열구내부와 구강의 교통을 차단해 세균의 증식을 억제하고 우식을 예방한다(Simonsen RJ 2002). 치면열구전색제의 소와 및 열구 우식예방 효과는 우수하지만, 교합력이나 시술 시 타액에 의한 오염, 열팽창계수의 차이 등에 의해 탈락하여 이차 우식

을 유발할 수 있다(Hansen EK 1993). 그리고, 재료 자체의 성질이나 전색 술식상의 요인들도 변연 누출 및 탈락의 요인이 될 수 있다(Simons EW et al. 1976).

치면열구전색제의 단점을 보완하기 위하여 새로운 재료가 개발되어왔다. 필러를 첨가하여 물성이 우수한 전색제를 만들었다. 필러가 함유된 전색제는 미세누출이 적고, 마모 저항성 및 파절 저항성이 높아졌으나, 흐름성이 떨어져 좁은 열구 내로의 침투력이 상대적으로 약하고 마모저항성이 높아져 전색 술식 중 교합 조정 단계가 반드시 필요하다는 단점이 있었다(Tilliss TS 1992). 또한, 불소를 첨가하여 재광화 및 우식 억제 효과가 기대되는 전색제를 만들었으나, 불소를 첨가하는 과정에서 여러 가지 문제점이 제기되었고(Swartz ML 1976, Zitz A 1981), 불소 유리 기간 짧았으며, 기존 전색제보다 우수한 효과가 입증되지 않았다(Moffa JP 1982). 불소를 방출하고 치질과 화학적으로 결합하는 글라스 아이오노머 시멘트 전색제를 사용하기도 하였으나, 미세누출이 많고 잘 탈락되어 이차적인 우식의 발생 가능성이 높아 임시적인 전색 목적으로만 사용되었다(Simonsen RJ 2002). 따라서, 치면열구전색제에 첨가되어, 물성을 향상시킬 수 있는 물질에 대한 연구가 계속되고 있다.

2005년 Park 등은 기존의 치면열구전색제에 0.2-0.3 um 크기의 마이크로 하이드록시아파타이트(Hydroxyapatite, HA)을 첨가하여 기존의 치면열구전색제의 물성을 약화시키지 않으면서, 결합강도 증가 및 재광화 효과가 있음을 보였다(Park SW et al. 2005). HA는 인간의 치아 및 골조직의 주요 구성성분으로 생체친화성을 가지고 있어 골 이식 및 재생치료 재료, 치과 수복재, 탈회된 치아표면의 재광화 재재 등으로 사용되고 있다(Marcacci et al. 1999, 김 등 2006). HA를 치약이나 구강양치액, 스포츠 음료 등에 함유하여 사용했을 때, 법랑질에서 칼슘과 인 등이 소실된 부위의 무기질을

보충해 재광화 효과를 나타내는 것으로 보고되었다(Lee 2007). HA의 재광화 효과는 HA의 구성성분인 칼슘과 인이 용해되어 무기질 이온은 공급하는 기전과 직접적으로 탈회된 법랑질 표면의 미세공극을 채워주는 기전에 의한 것으로 생각된다.

최근에 구강 양치액에 마이크로 HA를 넣은 것보다 나노 HA를 넣었을 때 재광화 효과가 높다는 연구가 발표되었다(김 등 2006). 나노 HA는 마이크로 HA에 비해 작고 치아 경조직과 더 유사하며 용해도가 높고 표면적이 크며(Domingo et al. 2001, Arcis et al. 2002), 칼슘과 인 등의 무기질 이온을 잘 공급하며, 탈회된 치아 표면의 미세공극을 채우는 효과가 뛰어나다(Huang et al. 2003). 또한, 법랑질 사이의 미세공극은 0.1 μm 이므로, 0.2-0.3 μm 의 마이크로 HA보다 더 작은 입자의 HA를 사용하는 경우 우수한 재광화 효과를 얻을 수 있을 것이다. 따라서, 나노 HA를 치면열구전색체에 첨가하였을 때 높은 재광화 효과를 얻을 수 있을 것으로 기대되었다.

본 실험의 목적은 치면열구전색체의 나노 HA의 함량에 따른 중합깊이 및 결합강도, 탈회 저항성의 변화를 보고자 함이다.

II. 실험 재료 및 방법

1. 실험 재료

시판용 치면열구전색제 Concise™(3M/ESPE, USA)와 광중합기 XL3000 (3M/ESPE, USA)을 사용하였다. Concise™는 non-filler 형태의 레진계열 치면열구전색제로 주 성분은 Bis-GMA이며, 희석제로 TEGDMA가 들어있다. 광중합기는 치면열구전색제 제조사의 지시에 따라 같은 회사의 제품을 사용하였다.

나노미터 입자 크기의 HA는 분자식이 $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ 이고, 입자 직경이 100-150 nm 인, Medical grade extra pure nano powder hydroxyapatite (OssGen Inc., Korea)를 사용하였다.

2. 실험 방법

1) 표본 준비

실험군은 시판용 치면열구전색제에 5, 10, 15, 20 %의 무게비로 나노 HA를 혼합하였으며, 나노 HA를 5% 혼합한 군을 nHA-5, 10% 혼합한 군을 nHA-10, 15% 혼합한 군을 nHA-15, 20% 혼합한 군을 nHA-20으로 지정하였다. 대조군은 Concise™을 사용하였다.

Table 1. Sample identification of dental fissure sealant

Sample	Sealant	HA(Wt%)
Control	Concise™	0
nHA-5	Concise™	5
nHA-10	Concise™	10
nHA-15	Concise™	15
nHA-20	Concise™	20

2) 중합깊이

ISO 6874:2005(E) 규정에 따라 광중합 치면열구전색체의 기본적인 성질인 중합깊이에 대한 실험을 하였다(ISO, 2005). 6mm 높이와 4mm 직경의 원통형 스테인리스 스틸 몰드와 2 개의 슬라이드 유리, 흰색 여과 종이, 투명한 필름, 광중합기, 0.01mm 까지 측정 가능한 자, 플라스틱 스파툴라를 준비하였다. 슬라이드 유리위에 투명한 필름을 놓고 몰드를 위치시켰다. 제조사에 지시에 따라 기포가 생기지 않도록 조심하면서 치면열구 전색체를 약간 과량 충전한 다음, 두 번째 필름을 덮고 두 번째 슬라이드 유리로 덮었다. 과량의 재료는 제거하였다. 여과 종이위에 몰드를 놓고, 위쪽 필름을 덮고 있는 슬라이드 유리를 제거한 다음 광중합기로 중합하였다. 중합한 후, 몰드의 시편을 제거해 중합되지 않은 재료를 플라스틱 스파툴라로 제거하였으며 중합된 재료의 높이를 측정하였으며, 동일한 과정을 3회 시행하였다. 세 번의 결과 모두 1.5mm 이상이 되면 재료는 광중합 치면열구전색체로서의 요구조건을 만족시키게 된다.

3) 결합강도와 주사전자현미경을 이용한 탈회면 관찰

나노 HA의 첨가에 따른 치면열구전색제의 범랑질에 대한 결합강도의 변화를 측정하고자 하였다. 각 군당 11개씩 총 55개의 발거된 대구치의 가장 평편한 범랑질면에 원통형태(직경 6mm, 높이 4 mm)의 polyethylene tube를 이용해 치면열구전색제를 접착시켰다. 모든 술식은 제조사의 지시에 따라 진행하였다.

표본은 실제 구강 내 조건을 재현하기 위해 37°C에서 pH 7.4인 유사체액(simulated body fluid, SBF)에서 보관하였다. 용액은 1 주일에 한 번 교환하였다. 구강 내에서의 시간이 주는 영향을 알아보기 위해 기간을 1 주와 4 주로 나누었으며, 각 군에서 5개는 1 주 후 관찰하였고, 나머지는 4 주 후 관찰했다. 각 표본은 만능시험기(Instron, UK)를 이용하여 head speed 1 mm/min의 속도로 파절강도를 측정하였고, 전단결합강도는 파절강도와 결합면적의 비로 계산하여 mN/mm^2 단위로 평가하였다.

결합강도 측정 후 주사전자현미경(S 2000, Hitachi, Japan)을 이용하여 파절면을 관찰하였다. 파절면은 치면열구전색제와 범랑질 사이에서 일어나는 계면파절, 치면열구전색제 내부 또는 범랑질 내부에서 일어나는 응집파절로 분류하였다.

4) 탈회 저항성 실험과 CLSM을 이용한 탈회면 관찰

나노 HA를 첨가한 치면열구전색제의 법랑질 탈회 저항성에 주는 효과를 알아보려고 하였다. 치아우식증이 없는 발거된 영구대구치의 법랑-백악 경계를 따라서 박스형태의 와동 (6 mm x 2 mm x 1.5 mm)을 형성하였고 와동의 변연은 저속 fissure bur로 마무리하였으며 cavo-surface angle은 90도에 가깝도록 형성하였다. 실험군과 대조군의 치면열구전색제를 충전한 다음 Sof-Lex™ disk로 연마하였다.

내산성인 varnish를 와동 변연으로부터 1 mm 떨어진 치아 면에 2 번 적용하였고 치아를 25 ml의 acid buffer solution(pH 5.0)에 넣은 후 37도에서 4일간 보관하였으며 산 용액은 24시간 마다 교체하였다. 4일 뒤 치아를 epoxy-resin에 묻은 후, EXAKT diamond band saws (EXAKT Co., Germany)를 사용하여 수복물의 중앙을 지나도록 치아의 장축방향으로 절단하여 시편을 제작하였다. 절단한 시편은 confocal laser scanning microscope(CLSM) (LSM 510, Carl Zeiss Meditec AG, Germany)을 이용해 재료 인접부 법랑질의 탈회 양상에 대한 관찰을 시행하였다. CLSM 촬영을 위해 표본을 0.1 mM Rhodamine B solution으로 1 시간 동안 염색하고 증류수로 수세한 후 건조시켰다. CLSM은 543nm 여기 파장 (excitation wavelength)을 갖는 He-Ne 레이저와 560nm의 long pass barrier filter를 사용하여 탈회된 병소가 있는 법랑질에서 형광을 나타낸다.

5) 통계 분석

SAS 9.0 version을 사용하였으며, 중합깊이, 결합강도 등에 대해 나노 HA의 함유량에 따라 차이가 있는지를 Kruskal-Wallis test로 분석하였다 (P value = 0.05). 그리고, DUNN procedure로 사후 검정하였다.

III. 결 과

1. 중합깊이

치면열구전색제의 중합깊이는 대조군은 평균 5.87 mm로 가장 높았으며, 실험군은 nHA-5는 5.32 mm, nHA-10은 4.64 mm, nHA-15는 4.58 mm, nHA-20은 4.33 mm 였다. 나노 HA 함량이 높아지면서 감소하였으나, 통계학적 유의차는 없었다($p>0.05$)(Table 2).

중합깊이는 ISO 6874:2005(E) 규정에 따른 치면열구전색제로서의 기본성질을 만족시켰다.

Table 2. Curing depth of dental fissure sealant (mm)

	1	2	3	Mean
Control	5.87	5.98	5.76	5.87
nHA-5	5.39	5.27	5.29	5.32
nHA-10	4.51	4.72	4.69	4.64
nHA-15	4.55	4.53	4.67	4.58
nHA-20	4.62	3.97	4.41	4.33

2. 결합강도

1 주일 동안 SBF용액에 침전시킨 후 결합강도를 측정한 경우, 중간값이 대조군에서는 10.78 mN/mm^2 , 실험군에서는 nHA-5, 10, 15, 20이 각각 13.62, 14.54, 15.91, 15.92 mN/mm^2 였다. 나노 HA의 함량이 커지면서 결합강도는 증가하였고 nHA-20에서 최대값을 나타내었으나, 통계학적 유의차는 없었다($p>0.05$).

4 주 후 결합강도를 측정한 경우, 중간값이 대조군에서는 8.44 mN/mm^2 , 실험군에서는 nHA-5, 10, 15, 20에서 각각 10.08, 12.57, 14.07, 15.61 mN/mm^2 였다. 나노 HA의 함량이 커지면서 결합강도는 증가하였으며 nHA-20에서 최대값을 나타내었다. 대조군과 nHA-15, 20군은 통계학적 유의차가 있었다($p<0.05$).

1 주군과 4 주군의 결합강도를 비교하였을 때, 같은 함량에서 1 주군이 더 높은 값을 보였으나 통계학적 유의차는 없었다($p>0.05$). 감소된 결합강도는 대조군에서 2.34, 실험군 nHA-5, 10, 15, 20에서 각각 3.54, 1.97, 1.84, 0.31로, 나노 HA 함량이 커지면서 결합강도의 감소량이 적어졌다.

Table 3. Bonding strength between dental fissure sealant and enamel (mN/mm²)

	1 week		4 weeks	
	Median	Range	Median	Range
Control	10.78	8.98-14.68	8.44 ^{a,b}	6.75-9.84
nHA-5	13.62	10.86-19.14	10.08	8.07-12.89
nHA-10	14.54	12.22-17.71	12.57	10.27-14.39
nHA-15	15.91	12.57-18.85	14.07 ^a	10.69-16.63
nHA-20	15.92	13.15-22.38	15.61 ^b	12.51-16.89

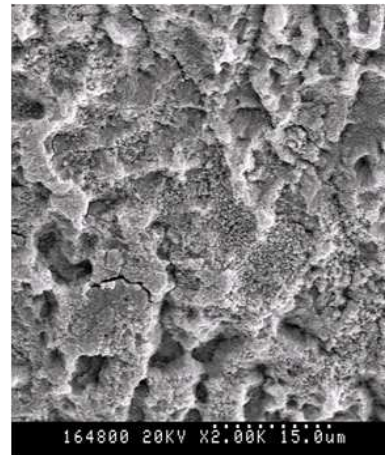
a : statistically significant at critical value = 3.44 by Dunn procedure

b : statistically significant at critical value = 3.90 by Dunn procedure

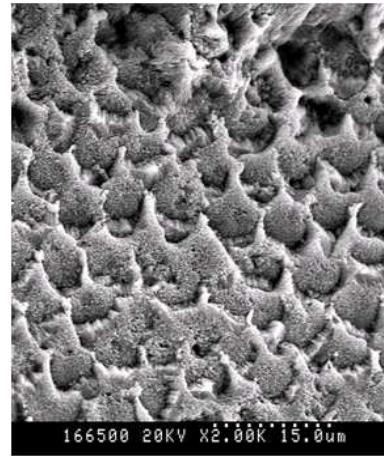
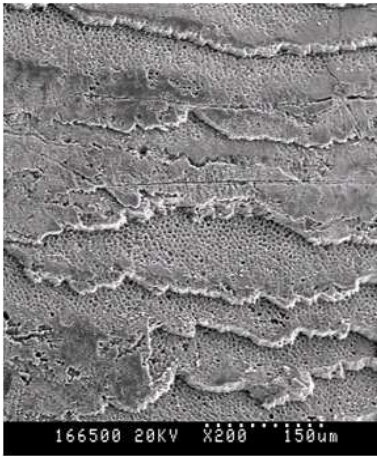
3. 결합강도 측정 후 주사전자현미경을 이용한 파절면 관찰

결합강도 실험에 의해 파절된 시편의 파절면을 관찰한 결과, 응집파절과 계면파절 및 두 파절 양상이 혼재되어 나타났다. 응집파절은 치면열구전색제 내에서만 발생하였으며, 법랑질 내에서 발생한 경우는 없었다.

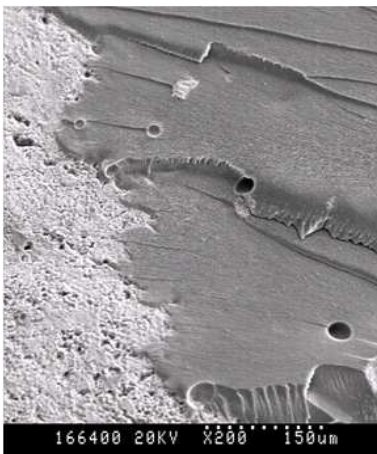
Fig. 1-(a)는 1 주군의 nHA-10에서 나타난 응집 파절로 법랑질 상방을 치면열구전색제가 덮고 있는 것이 나타나며, Fig. 1-(b)는 4 주군의 nHA-10에서 보이는 계면 파절로 일정한 방향의 법랑질 결정이 관찰된다는 관찰하였다. Fig. 1-(c)는 4 주군의 nHA-5 시편에서 응집파절과 계면파절이 혼재되어 발생한 경우로, 200배 주사전자현미경 사진에서 좌측 부분은 법랑질과 치면열구전색제에서 발생한 계면파절, 우측은 치면열구전색제 내에서 발생한 응집파절이 관찰된다.



(a)



(b)



(c)

Fig. 1. Fractured surface between tooth and sealant. x 200, x 2000 ;
(a) Cohesive failure in nHA-10, 1 week. (b) Adhesive failure in nHA-10, 4 weeks. (c) Mixed failure in nHA-5, 4 weeks.

4. 탈회 저항성과 CLSM을 이용한 탈회면 관찰

범랑질을 acid buffer solution(pH 5)로 탈회시킨 후, 시편을 Rhodamine B solution으로 염색하여 CLSM 촬영을 하면, 탈회된 공간은 붉은 색을 띄었다. nHA-20군에서 대조군보다 범랑질 탈회가 적게 일어났다(Fig. 2).

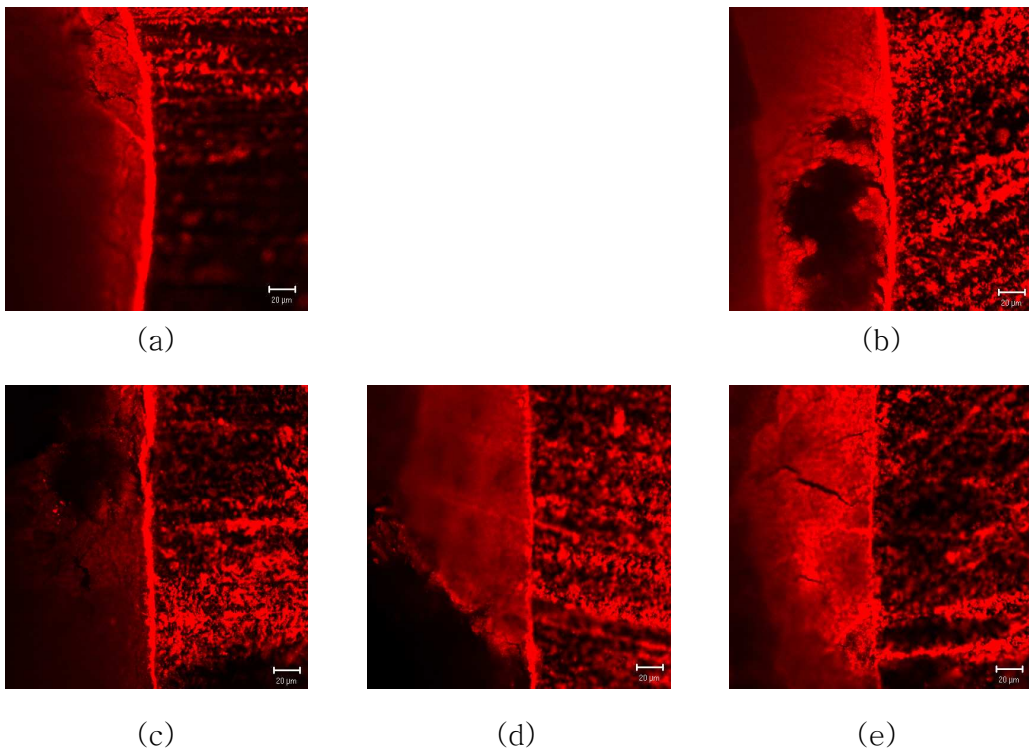


Fig. 2. Interface between tooth and sealant observed under CLSM after demineralization; the middle and red lines present the demineralized areas: Left-enamel, Right-sealant x 10 ; (a) the control group, (b) nHA-5, (c) nHA-10, (d) nHA-15, (e) nHA-20.

IV. 고 찰

치면열구전색제는 우식 감수성이 높은 교합면의 치면열구에 적용되어 교합면 우식증을 예방하는 효과적인 방법이다(Simonsen RJ 1991). 우식예방 효과는 1년 후 83%에서 15년 후에도 53%로 우수하다고 알려져 있으나, 탈락율이 1년 후 8%에서 5년 33% 인 것이 문제가 된다. Hicks 등과 Gowing은 치면열구전색제가 탈락한 후 잔존하는 레진 tag로 인해 지속적인 예방효과를 보인다고 하였으나(Hicks MJ et al. 1982, Going RE 1972), 실제 임상에서 전색제 탈락이나 미세누출에 의해 이차우식이 발생되어 치면열구전색이 실패하는 것을 관찰 할 수 있다. 이러한 단점을 보완하기 위해 필러를 첨가하여 파절 강도를 높이고, 불소를 첨가하여 이차우식을 줄이려는 노력이 있었지만, 술식이 번거롭거나 뚜렷한 장점이 증명된 바 없었다. 또한, 불소를 유리하는 글라스 아이오노머 시멘트 전색제도 미세누출이 크고 유지력이 약해 기존의 전색제를 대체할 수 없었다. 따라서 치면열구전색제에 첨가해 물성을 높일 수 있는 새로운 재료의 개발이 필요하게 되었다.

치아 경조직의 재광화를 유발할 수 있는 물질로 calcium phosphate, casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate, HA 등이 있다 (Itthagarun 2005, Reynolds EC 1998, 2003). 이 중 HA는 골이나 치아의 경조직과 성질이 비슷해 높은 생체적합성을 가진다. 재광화 성질 외에도 치아 수복재에 첨가하면 마모도, 기계적 성질을 증진시키며, 연마성을 좋게하고 내부적인 방사선 불투과성을 띄게해, 필러 물질로서 적합한 성질을 가진다(Domingo C 2001). 치면열구전색제에 마이크로 HA를 첨가한 실험은 2005년 Park에 의해 시행되었으며, 마이크로 HA의 함량의 증가에 따라 결합강도가 증가함이 밝혀졌다. Suzuki는 같은 물질이라도 나노 크기로 만들

에 따라 물성을 향상시킬 수 있다고 하였기 때문에, 나노 HA를 치면열구전색체에 첨가하면 물성이 증가하여 결합강도가 더욱 향상될 것으로 예상되었다.

사용된 치면열구전색제는 Concise™ (3MESPE/USA)로 non-filler 형태이다. 주성분은 Bis-GMA로 충전용 레진과 비슷하지만, 좁은 치면열구에 쉽게 침투할 수 있도록 흐름성을 더 좋게 하기 위해 점도가 높은 Bis-GMA 단량체에 희석제 단량체(TEGMDA)가 혼합되어 있다. 치면열구전색제에는 filler 형태와 non-filler 형태가 있는데, non-filler 형태가 나노 HA의 혼합에 용이하고, 나노 HA와 필러와의 상호작용이 없어 나노 HA의 고유한 효과를 보기에 알맞을 것으로 생각하여 실험재료로 선택하였다. 실험군은 나노 HA를 무게비로 5, 10, 15, 20% 첨가한 4 개군이였다. 실험군은 아무것도 첨가하지 않은 Concise™ 이었다. 적절한 혼합비를 얻기 위해 나노 HA의 양을 5% 씩 증가하였는데, 25% 이상이 되자 혼합한 치면열구전색제의 흐름성이 매우 낮아져서 실험에 적합하지 못했다.

중합깊이시험에서는 국제 규격인 ISO 6874의 2005년 개정판에 따라 제조된 치면열구전색제의 기본적인 성질을 확인하였다. 최대값은 대조군에서 5.87 mm, 최저값은 nHA-20군에서 4.33 mm으로 나타나, 나노 HA 함유량이 높을수록 중합깊이가 감소하는 양상을 확인할 수 있었으나, 통계학적인 유의차는 없었다. 모든 군에서 중합깊이 1.5 mm 이상으로 조건을 만족하였다.

결합강도는 1 주군에서 대조군 10.78 mN/mm², 실험군 nHA-5, 10, 15, 20은 각각 13.62, 14.54, 15.91, 15.92 mN/mm²로 전반적으로 HA 함량이 증가할수록 비례하여 증가하였다. 4 주군에서도 비슷한 양상이 나타났는데, 대조군은 8.44 mN/mm², 실험군 nHA-5, 10, 15, 20은 각각 10.08, 12.57, 14.07, 15.61 mN/mm²으로 증가하였으며, 대조군과 실험군

nHA-15, 20은 통계학적 유의차를 보였다.

1 주군과 4 주군을 같은 함량에서 비교하면 4 주군이 더 낮았으나, 통계학적 유의차는 없어서, 시간에 따른 결합강도의 변화는 없는 것으로 사료되었다. 그러나, 실험기간의 차이가 짧은 본 실험의 설계를 고려할 때, 시간과 결합강도에 상관관계에 대해서는 더 장기간의 연구가 필요할 것으로 보인다.

선행 연구인 2005년 Park 등의 연구 결과와 비교해보면, Park 등의 결과는 대조군이 평균 8.60 mN/mm^2 , 실험군은 HA-5, 10, 15, 20이 각각 9.14, 9.49, 9.68, 10.08 mN/mm^2 이었다. 본 연구의 4 주군과 비교해보면 그 차이가 각각 0.16, 0.94, 3.08, 4.39, 5.53 mN/mm^2 이다. %로 환산해보면 각각 1.86%, 10.28%, 32.46%, 45.35%, 54.86% 로 나노 HA를 첨가함에 따라 결합강도가 10.28-54.86% 증가하였다.

결합강도의 증가를 설명하는 정확한 기전은 알려지지 않았지만, 두 가지 이유를 생각해볼 수 있다. 첫 번째는 나노 HA에서 용출된 칼슘이온이 치아와 재료간의 이온 결합을 이루었기 때문이다(Lucas et al. 2003). 용량이 많을수록 결합강도가 커지는 것도 이온 결합이 증가하기 때문이라고 생각할 수 있다. 두 번째는 입자가 가지는 표면적이 증가하여 입자들이 표면에 달라붙는 흡착도가 증가한 것이다. 이전의 Park 등의 연구와 비교해볼 때, 같은 용량에서 전반적인 결합강도가 증가했는데, 이는 나노 입자의 크기가 작아 같은 무게비에서 표면적이 증가하는 것으로 설명할 수 있다. 또한, 나노 HA의 용량이 증가될수록 결합강도가 커지는 것도 같은 맥락으로 파악할 수 있다.

결합강도 측정 후 시편의 파절면을 SEM으로 관찰하였다. 파절면은 형태에 따라서 접착제와 피착제의 계면에서의 실패에 기인하는 계면 파절, 피착제 내부 또는 접착제 내부에서 기인하는 응집 파절이 있다. 본 실험에서는 치

면열구전색제와 범랑질 사이에서 파절된 계면 파절과 치면열구전색제의 내부에서 파절된 응집 파절, 두 양상이 혼재된 파절이 나타났으나, 범랑질 내부에서 파절된 경우는 없었다.

1993년 Park은 non-filler 치면열구전색제와 filler 치면열구전색제, 불소 함유전색제의 결합강도 및 파절 형태를 비교한 연구를 하여, filler 치면열구전색제와 불소함유전색제가 non-filler 치면열구전색제에 비해 높은 결합강도를 나타내지만, 범랑질 내 파절을 보인다고 하였다(Park 1993). 이는 두 종류의 치면열구전색제의 결합강도가 22-24 mN/mm² 이어서 범랑질의 결합강도인 20-24 mN/mm² 보다 높기 때문이라고 설명하였다. 본 연구의 실험군의 결합강도는 평균적으로 10-15 mN/mm² 이어서 범랑질 파괴가 일어나지 않은 것으로 사료된다. 범랑질의 파절이 일어나면 표면 거칠기가 증가되어 치태가 잘 부착되고, 이차 우식이 발생하기 쉬워진다. 범랑질 파절이 일어나지 않은 것은 나노 HA 치면열구전색제의 장점이다.

탈회저항성시험에서는 시편을 pH 5의 탈회용액에 4일간 침전시킨 후 EXAKT diamond band saws로 시편을 절단한 후, CLSM으로 관찰하였다. 탈회된 구간은 대조군, nHA-5, nHA-10, nHA-15, nHA-20 순으로 좁게 나타나, 나노 HA의 함량이 높을수록 큰 탈회저항성을 가지는 것을 알 수 있었다. 그 이유는 나노 HA에서 칼슘과 인이 용해됨으로 무기질 이온을 공급해 재광화를 촉진하며(Huang 2003, Mazzaoui 2003, Domingo 2000), 나노 HA가 탈회된 범랑질 표면의 미세공극을 메우는 효과를 가지기 때문에 침착된 나노 HA가 범랑질 표면으로부터 용출되는 칼슘과 인 등의 이동을 방해할 수 있기 때문으로 추정된다. 치면열구전색제의 HA는 탈회용액에 용해되어 칼슘과 인등의 무기질의 농도를 높이게 되고, 용액내의 무기질의 농도가 높으면 재광화가 촉진되게 된다. 나노 HA는 용해도가 크기 때문에 나노 HA의 함량이 많을 수록 용해 또한 크게 일어났을 것이다.

결론적으로 나노 HA를 치면열구전색체에 첨가하였을 때, 치면열구전색체로서의 기본 성질은 만족하면서 탈회저항성 및 결합강도의 증가가 나타났다. 이것은 기존 치면열구전색체의 단점인 탈락과 이차우식에 저항성을 가질 수 있다는 것으로 임상적인 의의를 가진다.

V. 결 론

치면열구전색제는 우식 감수성이 높은 치면열구를 수복하는 치과재료로써 열구를 충전하여 열구내부와 구강의 교통을 차단해 세균의 증식을 억제하고 우식을 예방한다. 우식예방효과는 우수하지만, 교합력이나 시술 시 타액에 의한 오염, 열팽창계수의 차이 등에 의해 탈락하여 이차 우식을 유발할 수 있다. 이를 보완하기 위해 하이드록시아파타이트(Hydroxyapatite, HA)를 치면열구전색제에 첨가하여 물성을 향상시키는 연구가 이루어졌다. HA는 사람의 치아 및 골조직의 주요 구성성분으로 생체친화성 및 탈회된 치아 표면의 재광화 효과를 가진다. 또한, 나노 기술을 이용하면 더 좋은 효과를 낼 수 있을 것으로 기대된다.

본 실험의 목적은 치면열구전색제에 함량을 달리하여 나노 HA를 첨가하였을 때 중합깊이, 결합강도 및 탈회 저항성의 변화를 보고자 함이다. 실험군은 Concise™ 치면열구전색제에 나노 HA를 각각 5, 10, 15, 20 %의 무게비로 첨가하였으며, 대조군은 Concise™ 이었다.

1. 치면열구전색제의 중합깊이는 대조군, nHA-5, nHA-10, nHA-15, nHA-20 순으로 감소하였고, ISO 6874:2005(E) 규정에 따른 치면열구전색제로서의 기본성질을 만족시켰으나, 통계학적으로 유의성은 없었다 ($p>0.05$).

2. 치면열구전색제의 결합강도는 나노 HA의 함량이 높아질수록 증가하였으며, 4주의 대조군과 nHA-15, 20의 사이에서 통계학적으로 유의성이 있었다 ($p<0.05$).

3. 주사전자현미경으로 결합강도 측정 후 파절된 면을 관찰한 결과 범랑질과 치면열구전색제사이의 계면 파절과 치면열구전색제 내부의 응집 파절, 계면 파절과 응집 파절이 혼합된 양상이 나타났다.

4. Confocal laser scanning microscope을 이용해 4일간 탈회시킨 시편의 탈회면을 관찰하였을 때, 나노 HA의 함량이 높아질수록 탈회 구간이 더 좁게 나타났다.

이 실험에서 치면열구전색제에 나노 HA를 첨가하였을 때, 결합강도가 증가하였고, 탈회저항성이 높게 나타났다. 이런 결과를 통해 치면열구전색제에 나노 HA를 첨가할 경우 치면열구전색제의 탈락이나 이차 치아우식증을 감소시켜 치아우식증의 예방 효과를 높일 수 있을 것으로 사료된다.

참고 문헌

김민영, 권호근, 김백일 : 나노 및 마이크로 수산화인회석 함유 구강양치액의 재광화 효과 비교. 대한구강보건학회지,30:325-33,2006.

Anderson P, Bollet-Quivogne FR, Dowker SE, et al. : Demineralization in enamel and hydroxyapatite aggregates at increasing ionic strength. Arch Oral Biol,49:199-207,2004.

Domingo C, Arcis RW, Lopez-Macipe A, et al. : Dental composites reinforced with hydroxyapatite: mechanical behavior and absorption/elution characteristics. J Biomed Mater Res,56:297-305, 2001.

Gowing RE : Microleakage around dental restorations : a summarizing review. JADA,88:592-602,1974.

Hansen EK : Visible light-cured composite resins : polymerization contraction, contraction, contraction pattern and hygroscopic expansion. Scand J Dent Res,90:329-35,1982.

Hicks MJ, Silverstone LM : The effect of sealant application and sealant loss on caries-like lesion formation in vitro. Pediatric Dent, 4:11-4,1982.

Huang M, Feng J, Wang J, et al. : Synthesis and characterization of nano-HA/PA66 composites. *J Mater Sci Mater Med*,14:655-60, 2003.

International Standard Organization : Reference number ISO 6874:2005(E). www.iso.org, 2005.

Itthagarun A, King NM, Yiu C, et al. : The effect of chewing gums containing calcium phosphates on the remineralization of artificial caries-like lesions in situ. *Caries Res*,39:251-4,2005.

Lee HJ, Kim JH, Choi CH, et al. : Remineralization potential of sports drink containing nano-sized hydroxyapatite. *Key Engin Mat*,330-332:275-8,2007.

Lucas ME, Arita K, Nishino M : Toughness, bonding and fluoride-release properties of hydroxyapatite-added glass ionomer cement. *Biomaterials*,24:3787-94, 2003.

Marcacci M, Kon E, Zaffagnini S, et al. : Reconstruction of extensive long-bone defects in sheep using porous hydroxyapatite sponges. *Calcif Tissue Int*,64:83-90,1999.

Mazzaoui SA, Burrow MF, Tyas MJ, et al. : Incorporation of Casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate into a glass-ionomer cement. *J Dent Res*,82:914-8,2003.

Mertz-Fairhurst EJ, Fairhurst CW, Williams JE, et al. : A comparative clinical study of two pit & fissure sealants : Six-year Results in Augusta, GA. J Am Dent Assoc,105:237-9,1982.

Mertz-Fairhurst EJ, Fairhurst CW, Williams JE, et al.: A comparative clinical study of two pit & fissure sealants : Seven-year Results in Augusta, GA. J Am Dent Assoc,107:237-9,1984.

Moffa JP : Biological effects of Nickel-containing dental alloys. J Am Dent Res.104:501-5,1982.

Park KT, Georgescu M, Schere W, et al. : Comparison of shear strength, fracture patterns, and microleakage among unfilled, filled, and fluoride-releasing sealants. Pediatric Dentistry,15:418-21,1993.

Park SW, Lee YK, Kim YU, et al. : The effect of hydroxyapatite on the remineralization of dental fissure sealant. Key Engin Mat,284-286:35-8,2005.

Reynolds EC : Anticariogenic complexes of amorphous calcium phosphate stabilized by casein phosphopeptides : a review. Spec Care Dentist,18:8-16,1998.

Reynolds EC, Cai F, Shen P, et al. : Retention in plaque and

remineralization of enamel lesions by various forms of calcium in a mouthrinse or sugar-free chewing gum. J Dent Res,82:206-11,2003.

Simons EW, Barghi N, Muscott JF : Thermocycling of pit and fissure sealants. J Dent Res,55:606-10,1976.

Simonsen RJ : Pit and fissure sealant : review of the literature. Pediat Dent,24:393-414,2002.

Suzuki S : In vitro wear of nano-composite denture teeth. J Prosthodont,13:238-43,2004.

Swartz ML, Phillips RW, Norman RD, et al. Addition of fluoride to pit and fissure sealants – a feasibility study. J Dent Res,55:757-71,1976.

Tillis Ts, Stach DJ, Hatch RA, et al. : Occlusal discrepancies after sealant therapy. J Prosthet Dent,68:223-8,1992.

Zitz A, Gedalia I, Grajower R : Addition of fluoride compounds to acrylic resin plastest-bonding strength and fluoride release. J Oral Rehab,8:37,1981.

Abstract

The Effect of Nano-sized Hydroxyapatite on the Demineralization Resistance of Dental Fissure Sealant

The dental fissure sealant is a dental material that fills the pit and fissure with high dental caries susceptibility and prevents dental caries. The effect of dental caries prevention is excellent. However, dental fissure sealant can fall out for various causes, such as occlusal force, contamination during the procedure, and difference in the thermal expansion coefficient between sealant and teeth, which may result in secondary dental caries. To improve its physical property, hydroxyapatite(HA) was added to the dental fissure sealant. HA is a major component of bone and teeth in the human body and has favorable biocompatibility and remineralization effect on the surface of human teeth. In addition, improvement in physical properties is expected by using nano technology.

The purpose of this study was to investigate and compare the curing depth, bonding strength, and demineralization resistance of dental fissure sealant containing different concentration of nano HA. Four experimental groups were prepared by mixing ConsiceTM with 5, 10, 15, 20 wt % nano HA, respectively. ConsiceTM was used as

the control group.

1. The curing depth of dental fissure sealant decreased with the increasing percentage of nano HA and satisfied the basic standard, ISO 6874:2005(E). However, there was no statistical significance($p>0.05$).

2. The bonding strength of dental fissure sealant increased with the increasing percentage of nano HA. There was statistically significant difference between the control group and nHA-15 and between the control group and nHA-20 in 4 weeks($p<0.05$).

3. According to observation under the scanning electron microscope of the fractured surface after bonding strength performance, three types of adhesion failure were observed; adhesive failure between enamel and dental fissure sealant, the cohesive failure within the dental fissure sealant, and mixed type.

4. When demineralization layer was observed under the confocal laser scanning microscope after 4 days of acid demineralization, thinner layer was observed in the group with higher nano HA concentration.

In this study, the bonding strength and demineralization resistance of dental fissure sealant increased when nano HA was added.

According to these results, addition of nano HA to the dental fissure sealant not only improved demineralization resistance of dental fissure sealant, but it also improved the caries prevention effect by reducing the chance for falling-out of sealant and, therefore, secondary dental caries.

Keywords : Nano hydroxyapatite, dental fissure sealant, bonding strength, demineralization resistance