J Korean Academy of Advanced General Dentistry 2016;5:77-86

상아질 접착에서의 Chlorhexidine의 효과

이난주, 조진형, 곽은정, 박원서, 정복영, 김기덕, 방난심
연세대학교 치과대학 통합진료학과

ABSTRACT

Chlorhexidine and Dentin Adhesion

Nan Ju Lee, Jinhyung Cho, Eun-Jung Kwak, Wonse Park, Bock-Young Jung, Kee-Deog Kim, Nan-Sim Pang

Department of Advanced General Dentistry, College of Dentistry, Yonsei University

This review examines the fundamental mechanism of dentin-resin bond degradation, considers the factors related with this event and furthermore, describes the more practical way to prevent the degradation followed by restoration failure. In spite of rapid development of dental adhesive, dentin-resin bond stability and durability are still major challenge to clinicians. Bacause dentin has unique environments, which are humid and moist, compared to enamel, it is difficult to acquire complete bond. Also presence of endogeneous matrix-metalloproteinases (MMPs) in dentin substrate plays a crucial role in the degradation. So, in order to prevent the degradation, complete infiltration of resin monomer to moist dentin substrate and inhibition of MMPs are essential in bonding process. There are multiple in vivo and in vitro reports showing that the durability and longevity of the dentin-resin bond interface is increased when non-specific enzyme inhibitors, especially Chlorhexidine (CHX) are used. Among many synthetic inhibitors, chlorhexidine (CHX) is the most widely used MMPs-inhibitor because of its 'substantivity'. Via its cationic-chelation mechanism, it inhibits MMPs (especially MMP-2, -9) effectively and consequently, reduces nanoleakage and increases bond stability. Also the use of CHX does not affect the immediate bond strength overall and gives no harm to mechanical properties of following adhesive resin. To sum up, the adoption of CHX is recommended as means of improving bond stability at this time.

Key words : Dentin, Chlorhexidine, CHX

서 론

최근 상아질 접착제의 놀라운 발전에도 불구하고, 상아질과 레진 수복물 사이의 '접착 안정성'은 여전히 주요한 한계점이자 해결해야 할 과제로 남아있다. 접착강도의 감소는 접착 수복물의 가장 큰 문제점이자, 수복물의 내구성을 감소시키는 원인이다[1]. 한 연구에 따르면, 상아질과 레진 수복물 사이의 접착력은 그 강도와 안정성이 초기 6개월~5년 사이에 상당히 많이 감소한다고 하였다[2]. 이러한 접착수복의 접착불안정성은 수복 후 과민증, 이차 우식증 및 결국 수복물의 탈락으로 이어지게 된다[3].

상아질-레진 접착은 상아질 본연의 특성으로 인해, 법랑질-레진 접착과는 조금 다른 양상을 보이며 완전한 접착을 얻기 어렵다[4]. 상아질은 그 구성성분의 30%가 유

Correspondence : Prof. Nan-Sim Pang
Department of Advanced General Dentistry, College of Dentistry, Yonsei University, 50 Yonsei-ro, Seodaemun-gu, Seoul 03722, Republic of Korea
Tel: +82-2-2228-8982, fax: +82-2-2227-8906
E-mail: pangns@yuhs.ac
Received: September 26, 2016; Revised: October 5, 2016; Accepted: October 10, 2016

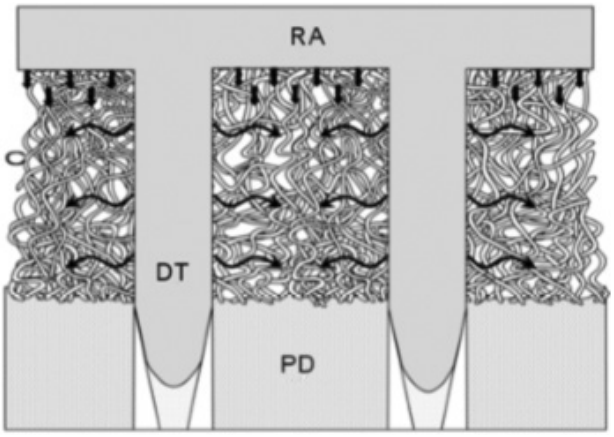


Figure 1. 탈회된 상아질 기질 내로의 접착 레진의 침투를 나타낸 모식도. DT: 상아세관, RA: 접착 레진, PD: 세관 사이 상아질.

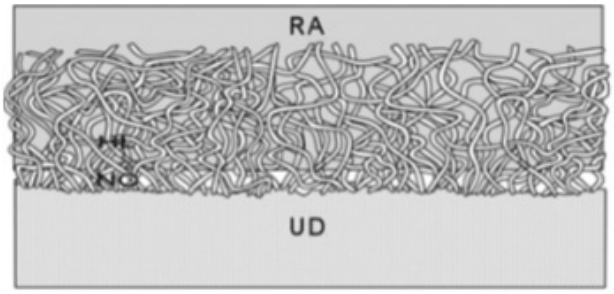


Figure 2. 상아질 내로 침투한 접착 레진을 나타낸 모식도. 하방에 레진단량체의 침투가 이루어지지 못해 노출된 교원섬유(NC)를 관찰할 수 있다. NC: 접착 레진에 의해 둘러쌓이지 못하고 노출된 교원섬유, HL: 혼성층.

기질이며, 그중 90%는 교원섬유, 나머지 10%는 비 섬유성 단백질인 단백당, 당단백 등으로 되어있다[5]. 교원섬유 중에서도 Type I 교원섬유가 대부분을 차지하며, 이것은 상아질의 생화학적 특성 및 인장강도를 결정하는 중요한 역할을 한다. 또한 법랑질에 비해 기질 내 수분의 함량이 높고, 상아세관 내에 상아세관 액이 존재하는 독특한 특성을 지니고 있다. 상아질-레진 접착은, 이러한 독특한 성질을 지닌 상아질 기질이 산 처리에 의해 탈회되면 레진단량체가 침투할 수 있는 골격(Scaffold)으로 작용하여 '혼성층(Hybrid layer)'을 형성함으로써 이루어진다. 즉 혼성층은 교원섬유, 상아질 내 여분의 수분, 접착 레진 내의 단량체, 수산화인회석 결정이 혼합되어 있는 구조이며[6] (Fig 1)[2], 상아질-레진 접착의 강도 및 안정성을 결정한다.

그러나 지금까지 임상적으로, 접착 레진 내의 단량체

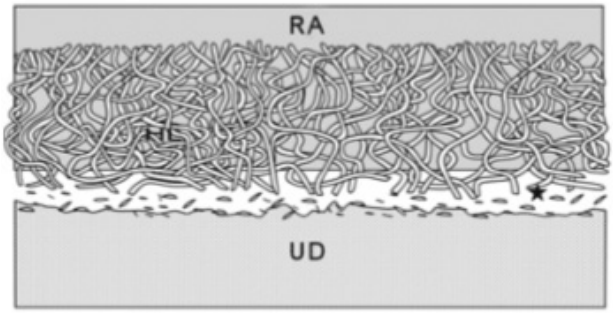


Figure 3. 수복 후 오랜 시간이 지난 뒤, 노출된 교원섬유가 분해됨(★)을 보여주는 모식도.

는 산 처리되어 탈회된 상아질 내 교원섬유 사이로 완전히 침투되지 못한다[7]. 결과적으로, 단량체가 완전히 침투하지 못하고 노출된 교원섬유들이 얇은 층을 형성하면서 나노미터의 공극(20~100 nm)을 유발하는데 (Fig 2)[2], 이것은 1995년 Sano 등[8]에 의해 '초미세누출(nanoleakage)'로 명명되었다.

이러한 공극은 여분의 물로 채워져 있으며, 이때의 물은 Esterase에 의한 레진기질뿐 아니라, 내인성 또는 외인성 교원섬유 분해 효소에 의한 교원섬유의 가수분해를 매개하는 중요한 역할을 하게 된다[9] (Fig 3)[2].

접착 계면에서의 효소에 의한 혼성층의 분해는 접착 수복물의 접착강도 감소의 가장 큰 원인이며, 이 말은 곧 혼성층의 균질성 및 온전성을 유지하는 것이 접착내구성을 유지하는 데 있어 결정적인 역할을 한다고 할 수 있다[10]. 결국, 장기적으로 성공적인 접착을 얻기 위해서는 탈회된 상아질 기질 사이로 레진단량체의 완벽한 침투가 이루어진, 균질하고 강한 혼성층의 형성이 필수적이다[11].

본 론

1. 상아질-레진 접착 내구성 감소의 원인

1) 레진단량체의 불완전한 침투

레진 접착의 최종 목표는 37% 인산 또는 Self-etch adhesive에 의해 탈회된 상아질 기질 사이로 레진단량체가 완전히 침투하는 것이다[12]. 그러나 실제로 탈회된 상아질의 깊이와 단량체 침투 깊이는 차이가 있으며, 이러한 깊이의 차이는 실험적으로 질산은 또는 형광염료가 침착되는 것을 통해 확인할 수 있다[13]. 레진단량체가 불완전하게 침투하는 이유 중 하나는, 침투 시 상아세관 내 상

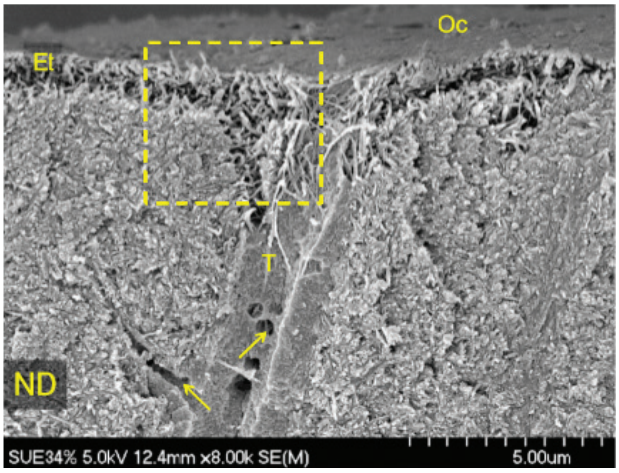


Figure 4. 37%의 인산을 15초간 적용하여 탈회된 상아질의 미세구조를 Scanning electron microscopy (SEM)를 통해 본 모습. 화살표는 세관문합 (tubular anastomoses)을 가리킴. Oc: 교합면, Et: 노출된 교원섬유를 지닌 상아질 기질, T: 상아세관, ND: 정상 상아질 기질.

아세관 액의 움직임과 관련이 있다[14] (Fig 4)[17].

또한 교원섬유는 내부 및 외부적으로 수분과 결합하고 있어, 수분이 단량체로 완전히 대체되는 것을 방해한다[15]. 그러나 수분뿐 아니라, 탈회된 상아질 기질 내 교원섬유 사이 공간은 수화된 단백당 또한 하이드로겔 (Hydrogel) 형태가 되어 'Hydrogel bridge'를 형성함으로써 레진단량체 침투를 막는다[16].

2) 친수성 단량체에 의한 수분 흡수 및 가수분해

최근의 많은 상아질 접착제는, 수분이 많은 친수성의 상아질과의 접착을 증가시키기 위해 소수성 단량체뿐 아니라 친수성 단량체를 같이 포함하고 있다[17]. 소수성 단량체는 수복레진과 상호작용 및 공중합을 하며, 친수성 단량체는 상아질에 대한 젖음성을 향상시켜 침투가 잘되게 하는 역할을 한다. 그러나 이러한 친수성 단량체의 포함으로 인한 상아질-레진 접착 계면의 친수성 성질의 증가는 몇 가지 단점을 가지고 있다[18]. 우선 친수성 단량체는 내부에 '에스터 결합 (Ester linkage)'을 갖고 있어 가수분해에 취약하고 이로 인해 접착 수복물의 기계적 물성을 감소시킨다[19]. 또한 친수성 단량체를 추가적으로 포함시킴으로서 접착 레진에서의 단량체의 농도가 증가되게 되고, 이로 인해 물을 포함한 접착 레진 내의 용매의 증발을 방해한다. 증발되지 못한 여분의 수분 및 용매는 반투과성 막 역할을 하여 접착 계면으로의 수분의 흡수 및 이동을 증가시키고, 이것이 가수분해를 더욱 촉진하게 된다. 결국, 친수성의 단량체 포함, 수분 흡수 증가, 가수분해는 밀접하게 상호 연관되어 일어나 결국 접착 내구성을 감소시킨다[20].

3) 효소적 분해 (Enzymatic degradation)

최근 상아질의 비 섬유성 단백질에 관한 연구에서, 상아질 교원섬유 내에는 Matrix- metalloproteinases (MMPs)라고 불리는 단백질분해효소를 비활성상태로 포함하고 있다고 밝혔다. 이러한 효소들은 상아질뿐 아니라, 상아모세포 모두에서 발견되었으며, 상아질-레진 접착의 분해에 중요한 역할을 하는 것으로 여겨지고 있다[21]. 특히 노출된 교원섬유는 이러한 숙주기원의 효소에 의한 분해에 매우 취약하다. 산 또는 산성단량체에 의한 상아질의 탈회로 내부에 있던 MMPs가 유출되고 활성화된다. 이렇게 활성화된 MMPs가 노출된 교원섬유를 공격할 뿐만 아니라, 노출된 교원섬유 주변에 존재하는 여분의 수분이 MMPs의 기능을 돕는다. 바꾸어 말하면, 혼성층 내의 교원섬유의 분해는 노출된 교원섬유의 존재를 나타내는 것이라 할 수 있다.

4) 접착 시스템에 따른 차이
(Etch-and-rinse VS Self-etch adhesive)

접착 시스템에 따라 (Etch-and-rinse systems, Self-etch systems) 상아질-레진 접착의 내구성이 감소하는 요인이 조금 다르다[3].

우선 Etch-and-rinse system은 37%의 인산을 이용하여 치아 법랑질과 상아질을 탈회시키고, 이로 인해 상아질 기질 내의 교원섬유가 노출되면서, 노출된 교원섬유 사이사이로 레진단량체가 침투하여 혼성층을 형성하여 접착을 이루는 시스템이다[22]. 탈회된 상아질 기질 내의 교원섬유가 레진단량체가 침투할 수 있는 골격이 되어주므로, 완전한 접착을 위해서는 교원섬유의 구조를 붕괴시키지 않고 유지하는 것이 중요하다. 'Wet-bonding 또는 Moist-bonding 기법'은 교원섬유 사이사이에 수분을 유지시켜 줌으로서 레진단량체가 침투하여 이것을 대체할 수 있도록 해준다. 그러나 실제로, 'Wet-bonding'은 술식 민감성이 높아 레진단량체의 완전한 침투를 위한 교원섬유의 구조를 유지하기 어렵고, 결국 혼성층 하방에 레진단량체가 침투하지 못하고 노출된 교원섬유가 존재하게 된다. 바로 이 부위가 내인성 MMPs의 작용에 의해 분해되면서 접착이 파괴되기 시작하고, 대체되지 못한 교원섬유 사이의 여분의 수분은 Esterase에 의한 접착 레진의 가수분해를 유발한다.

반면 Self-etch system에서는 법랑질 및 상아질의 탈회와 레진단량체의 침투가 동시에 일어나므로, 탈회 깊이와 레진단량체의 침투 깊이의 차이가 일어나지 않을 것이라고 쉽게 생각할 수 있다. 하지만 Cavalho 등에 의하면[23] Self-etch 시스템을 이용하는 경우에도 레진단량체의 불완전한 침투에 의한 '초미세누출(nanoleakge)'이 일어나며, 특히 약산을 사용하는 경우에 나타난다고 하였다. 왜냐하면 약산 사용 시, 상아질 탈회능력이 감소하면서 혼성층 하방까지의 침투가 어렵기 때문이며, 이것은 Etch-and-rinse system에서 나타난 과정이 동일하게 일어나면서 접착을 파괴한다. 다른 점은 Self-etch 접착 레진은 일반적으로 30~40%의 수분을 함유하고 있는데[24], 이는 수분이 곧 Self-etch 접착 레진의 주요한 구성성분이라는 것이다. 수분이 산성기능기를 이온화시켜 Hydronium ion (H_3O^+)을 형성시키며 또한 수분은 이러한 이온화 과정 자체를 촉진시킴으로서 탈회과정을 일으키게 한다. 이렇게 Self-etching 접착 레진 속 수분은 산성레진단량체의 이온화를 위해 필수적이지만, 혼성층 내에서의 강한 중합체 형성을 방해하여 기계적 물성을 떨어트릴 뿐만 아니라 접착내구성 감소 및 실패를 유발하게 된다.

2. 내인성 교원섬유 분해 효소: MMPs, Cathepsins

1) Matrix-metalloproteinases (MMPs)

Matrix-metalloproteinases (MMPs)는 1962년 Gross, Lapiere 등에 의해 맨 처음 소개되었다[25]. 이 효소들은 내인성 단백분해효소(Endopeptidase)에 속하며[26], 세포외기질에 존재한다. MMPs는 교원섬유를 포함한 단백질을 분해함으로서 조직 remodeling에 참여한다[27]. MMPs는 우리 몸의 어디에나 있으며, 특히 구강 내에서는 침, 치은 열구액, 그리고 상아질에 존재하고 있다. 구강 내에서 MMPs는, 치아발생과정, 기질의 광화에 참여할 뿐 아니라 치아우식의 진행, 치주질환 등의 구강 내 질환, 상아질-레진 접착 계면에서의 혼성층의 분해를 유발한다[28]. 최근 사람에게서 서로 다른 23개의 MMPs 유전자 및 그들의 기질이 밝혀졌으며, 특히 상아질에서는 5개의 MMPs: MMP-2, -3, -8, -9, -20이 있음이 밝혀졌다[29] (표 1)[3].

MMP-8은 Collagenase로서 치주질환 유발 및 기질 내 교원섬유 단백질을 조각내어 자르는 역할을 하며, MMP-2, -9는 Gelatinase로서 MMP-8에 의해 구조적으로 잘린 교원섬유단백질을 더욱더 분해하는 역할을 한다. MMPs는 상아질 전체에 걸쳐 존재하지만, 특히나 법랑질-상아질 접합(Dentin-Enamel jucntion, DEJ)에 보다 집중적으로 존재한다.

Table 1. *상아질 내에 존재하는 matrix-metalloproteinases (MMPs).*

MMP-2	Gelatinase A
MMP-3	Stromelysin-1
MMP-8	Neutrophil collagenase/collagenase-2
MMP-9	Gelatinase B
MMP-20	Enamelysin

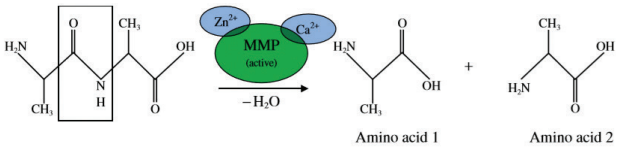


Figure 5. *Matrix-metalloproteinases (MMPs)가 교원섬유의 펩타이드 결합(peptide bond)을 끊음으로서 교원섬유를 분해시키는 것을 나타낸 모식도.*

이것은 상아질 발생과정 중 상아모세포에서 생성되며, 결국 상아질에 비활성상태로 포함되게 된다[30]. 이렇게 비활성상태의 MMPs는 pH 4.5 이하의 낮은 산도에서 상아질이 탈회되면서 기질 밖으로 방출되고, 활성화 되면서 기능을 하기 시작한다. 그러나 연구에 따르면 37% 인산(pH 0.17) 등의 매우 낮은 산도에서는 MMPs의 활성도가 떨어짐을 밝혔는데(약 35% 감소), 이것은 37%의 인산이 기질의 탈회뿐 아니라 MMPs의 변성을 유발하기 때문이라고 하였다[31]. 37%의 인산을 제외한, 산성의 단량체 성분을 포함한 대부분의 접착 레진은 pH가 1~2 사이로 MMPs를 변성시키지 않고 상아질을 탈회시키는데[32], 실험적으로 산성의 레진단량체는 MMPs의 활성을 14배 증가시킨다고 하였다[33]. 또한 MMPs가 기능을 하기 위해서는 산 이외에도 Ca^{2+}, Zn^{2+}의 금속이온이 필수적인, Ca^{2+}, Zn^{2+} 의존성 효소이다[26] (Fig 5)[2].

많은 생체 외, 생체 내 실험에서, 상아질 기질 내 존재하는 MMPs는 잠재적으로 혼성층 기저부에 존재하는 노출된 교원섬유를 분해함이 밝혀졌다[34]. 조금 더 명확히 혼성층 내에서의 MMPs의 존재 및 그들의 활성을 밝혀내기 위해 Zymography 기술을 이용한 방법이 고안되었다. 그동안의 연구들은 내인성 단백분해효소의 존재 및 활동을 밝혀왔지만, 그 증거는 부족하였다. 하지만 이 기술을 이용하면, 혼성층 내에서의 내인성 MMPs의 활성의 증거를 직접적으로 확인할 수 있다 (Fig 6)[35]. Fig 6(A)를 보면, 초록색으로 형광물질이 나타나는 부위가 MMPs의

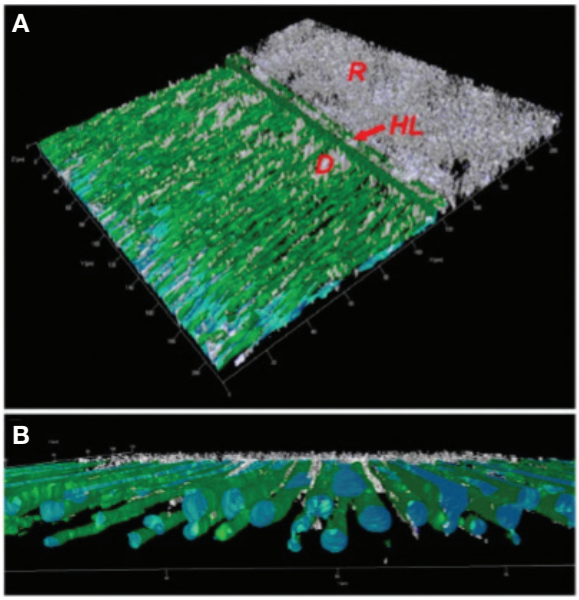


Figure 6. 상아질의 zymogramic views. 혼성층과 접착 레진층 내의 내인성 단백분해효소의 활성을 나타내고 있다. (A) 혼성층의 전 범위에 걸쳐 gelatin의 가수분해와 MMP의 활성이 높은 부위가 높은 형광도를 보이며 이것이 초록색의 관 (channel) 형태로 얻어진 3차원적 모델. (B) Higher magnification image model showing the 교원섬유분해 활성을 더욱 확대하여 나타낸 그림. 상아세관 내의 교원섬유 분해 활성도가 cylindrical 관 모양을 하고 있는 것을 볼 수 있다. R: 복합레진, HL: 혼성층, D: 상아질.

활성도가 높고, 가수분해가 일어나는 곳임을 나타낸다. 이것은 혼성층의 가장 기저부에 해당하며, 레진단량체가 침투되지 못하고 교원섬유가 노출된 부위와 일치함으로서, 이 부분에서 혼성층의 분해가 시작됨을 알 수 있다.

2) Cysteine proteases: Cathepsins

상아질-레진 수복물 사이의 접착강도는 MMPs 이외에도 Cathepsins이라고 불리는 효소에 의해 영향을 받는다. 상아모세포, 치수의 조직세포를 포함한 인체의 다양한 세포에서 생성되며[36], MMPs와 유사하게 Cathepsins 역시 내인성 단백분해효소로서 세포외기질의 remodeling 및 구강 내에서는 치아우식 및 치아기질 형성에도 관여한다. 혼성층 하방에서 MMPs 외에도 Cathepsin이 교원섬유 분해에 작용함이 밝혀짐에 따라, 상아질-레진 접착 계면에서의 교원섬유의 분해를 막기 위해서는 MMPs뿐만 아니라 Cathepsins의 활성 또한 억제해야 한다.

3. 교원섬유 분해효소의 억제: 'MMPs 억제제'의 사용

1) Chlorhexidine

MMPs에 의한 혼성층의 분해를 막기 위해서는, 탈회된 상아질 기질 내 교원섬유 사이로 완전히 레진단량체가 침투하여 노출된 교원섬유가 없도록 하는 것뿐만 아니라, 탈회된 상아질 내 존재하는 활성화된 MMPs의 활성을 억제하는 것 또한 매우 중요하다[2]. MMPs의 활성을 억제하기 위해 다양한 MMPs 억제제가 이용되어 질 수 있으며, 내인성 MMPs 억제제와, 외인성 MMPs 억제제로 나누어 볼 수 있다. 우선 MMPs는 내인성 MMPs 억제제인 Tissue inhibitor of metalloproteinases (TIMPs)에 의해 조절된다. MMPs와 TIMPs사이의 균형은 세포외기질의 remodeling에 매우 중요하며, 이것이 깨질 경우 많은 질환들이 발생될 수 있다[37]. 내인성 MMPs 억제제 이외에도, 외인성 즉 합성 MMPs 억제제를 사용함으로서 MMPs의 활성을 억제할 수 있다. 합성 MMPs 억제제를 37% 인산 또는 산성 단량체가 들어 있는 접착 레진 적용한 후 상아질 표면에 적용함으로서 레진 접착 수복물의 접착 내구성 및 안정성을 증가시킬 수 있다[34]. 이러한 합성 MMPs 억제제는 카르복실산(carboxylic acid)과 같은 기능기를 갖고 있어 MMPs 분자 내에 있는 Ca^{2+}, Zn^{2+}과 이온적으로 상호작용 함으로서 MMPs를 억제한다[17]. 다양한 합성 MMPs 억제제에 대한 연구 및 개발이 이루어지고 있지만, 그중에서도 Chlorhexidine (CHX)이 현재 가장 성공적으로 이용되어지고 있다. Chlorhexidine (CHX)은 항 미생물제제로서, 구강 내 세균에 대한 넓은 활성범위를 지니고 있으며 '지속성(Substantivity)'[38]이 높은 특성을 가지고 있다. 이러한 특성으로 인해, 이 양이온성 bisbiguanide는 치태 침착을 억제하여 치주질환의 치료와 예방을 위하여 구강세척용으로 사용되어지고 있다. 또한 1999년, CHX가 몇몇의 MMPs를 억제한다는 중요한 효과가 밝혀짐으로서[39] 치주질환 시 교원섬유를 포함한 치주조직의 비가역적 파괴를 막는 치료제로서 사용되기 시작했다. CHX가 치주질환이 아닌 치아접착과정에서 사용되기 시작한 것은 최근부터이며, MMPs뿐만 아니라 Cathepsins도 억제하는 비 선택적 단백분해효소 억제기능을 가진다는 것이 밝혀지고 나서부터이다[40]. CHX의 분자형태는 Fig 7[2]과 같다.

CHX는 MMPs의 3차원적 입체구조를 변화시키고, 그들의 기능에 필수적인 Ca^{2+}, Zn^{2+}을 고갈시킴으로서 MMPs를 효과적으로 억제한다 (Fig 8)[2]. 최근에는 CHX가 MMP-2, -8, -9를 직접적으로 억제함이 밝혀졌는데, MMP-2, -9에 대해서는 Fig 8[2]에서 보는 것과 같이, 양이온과 반응하는 킬레이션(chealation) 과정을 통해 억제하게 된다. 한 실험에서는[41] dentin powder에 Ca^{2+}을 첨가하

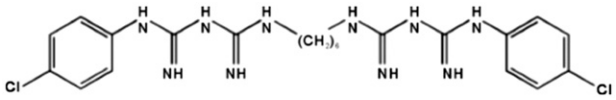


Figure 7. CHX의 분자구조.

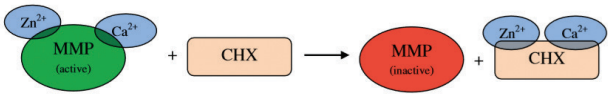


Figure 8. MMPs에 대한 Chlorhexidine (CHX)의 작용을 나타낸 모식도: CHX가 MMPs의 기능에 필요한 금속양이온을 고갈시킴으로서 억제효과를 발휘한다.

였더니, 교원섬유의 분해가 일어나지 않은 것을 확인하였는데, 이 실험을 통해 CHX가 MMPs의 양이온과 반응하여 억제함을 역으로 확인할 수 있었다(Fig 9)[2].

MMP-8에 대한 CHX의 억제기전은 MMP-2, -9와는 다른데, MMPs의 또 다른 기능기인 sulfhydryl 또는 cysteine 부위에 작용하여, 해당부위를 공격하거나, cysteine switch 반응을 통해 억제한다[42]. 즉 CHX가 MMPs의 종류에 따라 서로 다른 기전으로 억제하게 된다. CHX의 임상에서의 적용은 여러 가지 방법이 있을 수 있지만, 어떤 방법으로 사용되든 CHX는 순수한 액체 형태로 사용되어야 한다는 것이 공통된 의견이다[2]. 구강세척용으로 사용되어지는 CHX의 경우 보존제가 포함되어 접착 시 부정적 영향을 줄 수도 있기 때문이다. CHX의 임상적 적용방법으로는, 산 탈회 후 CHX를 따로 적용하는 방법으로서 적용 후 다시 물로 씻어내지 않기 때문에 상아질 표면과 더 오래 접촉할 수 있어 현재 가장 많이 사용되고 있는 방법, 산 탈회 제제에 CHX을 포함시키고 적정시간 적용 후 산과 함께 이를 씻어내는 방법, 접착 레진에 CHX를 구성성분으로 포함시켜 적용하는 방법이 있다. 첫 번째 방법의 경우 현재 가장 많이 사용되고 있으며 상아질 표면과 접촉시간이 길다는 장점이 있으나, CHX을 적용하는 추가적인 단계가 필요하고 이는 현재 상아질 접착과정을 단순화 시키려는 추세에 맞지 않는 단점이 있다. 이 방법의 경우 산 탈회 후, 수세 및 건조 후 CHX를 면구에 적신 후 적용하게 되는데, CHX 적용 후 짧은 시간 건조 후 물로 다시 수세해 내지 않는 것이 중요하다. 물로 수세하게 되는 경우 적용해 놓은 CHX이 씻겨나가 MMPs 억제효과가 없어지기 때문인데[43], 물이 아닌 알코올, HEMA 등을 이용할 경우에는 CHX가 표면에서 씻겨나가지 않기 때문에 접착과정 중 사용해도 괜찮다. CHX

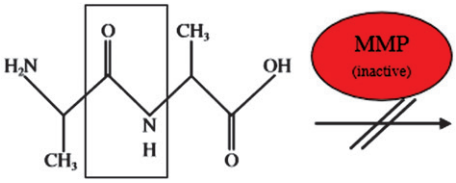


Figure 9. CHX에 의해 억제된 MMPs는 더 이상 교원섬유의 펩타이드 결합(peptide bonds)을 끊을 수 없게 된다. 따라서 더 이상 교원섬유의 분해 또한 일어나지 못하게 된다.



Figure 10. Etch-37 w/BAC benzalkonium chloride (BAC)를 포함한 37% phosphoric acid semi-gel etchant (BISCO Schaumer, USA).

을 산이나 접착 레진에 포함시키는 두, 세 번째 방법의 경우 추가적으로 CHX를 적용하는 단계가 없기 때문에 단순하고 간편하다. 특히 37% 인산에 CHX를 포함시키는 방법의 경우, 현재 상품화된 제제가 나와 있고, 연구도 많이 이루어졌다. 한 예로, 인산과 CHX와 비슷한 합성 MMPs 억제제 중 하나인 benzalkonium chloride (BAC) (Fig 10)를 포함한 탈회제제가 Bisco사에서 개발되어 현재 시판되어 사용되고 있다[44].

일반적인 산 적용방법과 동일하게 15초간 적용 후 수세하면 되는 방식으로 추가적인 단계가 필요 없다. 또한 아직 장기적인 결과는 나오지 않았지만, 37% 인산 속에 CHX를 첨가한다고 하더라도, 산 자체의 탈회능력에는 영향을 주지 않으며 즉각적인 접착강도 및 미세누출에도 부정적 영향을 주지 않는다는 연구결과가 밝혀졌다. 무엇보다도 가장 중요한 것은 이것을 적용하여도 상아질-레진 접착 계면에서 유의할 만한 교원섬유의 분해가 관찰되지 않았다는 것이다[45]. 일반적으로 CHX를 단독적으로 적용하는 경우 60초간 적용을 권장하고 있다. 하지만 CHX를 산에 포함시키는 경우, 산 적용시간인 15초 정도만을 표면에 적용하게 된다. 따라서 15초간의 적용시

간이 CHX가 상아질 표면을 적시고 기능을 하기에는 너무 짧지 않느냐는 우려가 있다. 하지만 CHX의 가장 큰 특성중 하나인 '지속성(Substantivity)'으로 인해 15초간의 짧은 시간일지라도 상아질-레진 접착 분해를 막기에는 충분하다고 생각되어지고 있다[46]. '지속성(Substantivity)'은 양이온성을 띄는 CHX가 상아질의 비 특정 단백질과 결합하기 때문에 나타나는 특성으로, 적용시간을 훨씬 넘어서 그 기능을 발휘할 수 있게 한다. 즉 CHX가 상아질 기질 내의 비 특정 단백질과 결합하고 있다가 시간이 지나면서 그 결합력이 약해져 서서히 떨어져 나가면서 마치 지속적으로 방출되는 형태로 나타나는 것이다[47]. 이러한 CHX의 지속시간은 연구마다 다양한데 일반적으로 48시간에서 21일까지 보고되고 있다[48]. 또 하나 우려가 되는 점은 37% 인산의 낮은 pH (pH-1) 속에서의 CHX의 안정성 문제이다. 앞으로 추가적인 연구가 더욱 필요하긴 하지만, 실험 결과 pH 2 정도의 낮은 산도에서도 CHX가 계속 작용하고 있음이 밝혀졌으며[49] 이것은 CHX가 산용액 속에서도 변성되거나 파괴되지 않고 MMPs 억제기능을 발휘하고 있음을 의미한다. CHX를 프라이머나 접착 레진 등의 접착제제에 포함시키는 세 번째 방법의 경우 역시 실험적으로는 상아질 내 MMPs의 활성을 억제해 교원섬유분해를 감소시켜주었음이 확인되었으나, 상아질-레진 사이의 접착강도에 어떠한 영향을 주는지에 대한 결과는 아직 부족하다[50]. CHX의 적용시간 이외에도 농도 또한 '지속성(Substantivity)'으로 설명될 수 있는데, 흥미롭게도 CHX 사용 시 상아질-레진 접착의 보존은 CHX의 농도와 무관하다. 이것은 Gendron 등[39]에 의해 결론 내려졌으며, 약 0.01%의 낮은 농도에서도 MMPs를 효과적으로 억제한다고 하였다. 또한 MMPs의 종류별로 CHX에 의해 억제되는 최소 농도가 조금씩 다른데, MMP-2가 0.0001%로 가장 낮으며 MMP-9가 0.002%, MMP-8은 0.02%에서 각각 그 기능이 억제되었다. 따라서 0.002%의 CHX로도 상아질에서 MMPs에 의한 교원섬유 분해를 억제하는 데 충분하며, 이 농도에서 치주관련 세포나 상아모세포와 유사한 세포들에게도 독성을 주지 않는다. 그러나 MMPs 억제제로서 CHX를 사용하는데 있어 가장 걱정이 되는 부분은 '과연 CHX를 사용하는 것이 상아질-레진 접착강도에 영향을 주지 않는가?'에 대한 부분이다. 대부분의 연구에서 2%의 CHX는 즉각적인 접착강도에 부정적인 영향을 주지 않으며, 2% 및 0.2%의 CHX 또한 시간이 지나면서 발생하는 접착강도의 감소율을 줄여 주어 상아질-레진 접착 안정성에 도움이 됨을 보여주었다[51]. 또한 실험에서 0.2%의 CHX 사용 시 혼성층 내에서의 '초미세누출(nanoleakage)'도 현저히 줄어들어 접착강도 유지에도 기여함을 확인할 수 있다(Fig 11)[35].

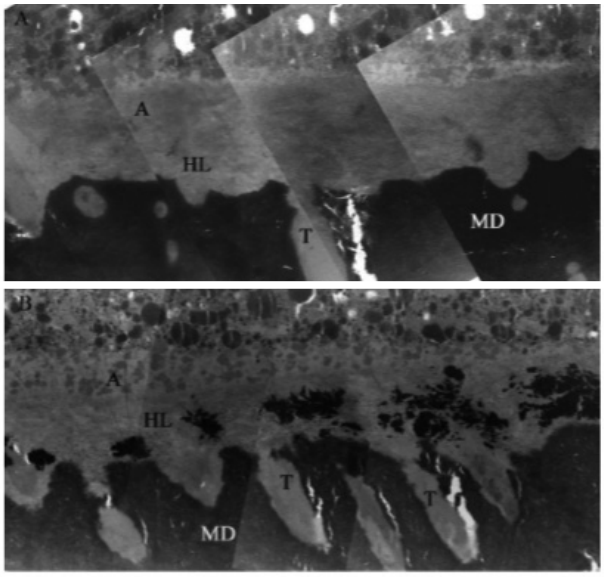


***Figure 11**. CHX를 추가적인 처리제로 사용한 경우와 사용하지 않은 경우, 상아질-레진 접착 계면에서의 혼성층 내 '초미세 누출(nanoleakge)' 비교. (A) 0.2% CHX를 30초간 적용 후 Scotch bond I XT (3M ESPE)를 사용한 뒤 얻은 TEM (Trasnmission Electron Microscopy) 사진. 접착 레진층 (A)과 맞닿는 혼성층 (HL) 부위에서 질산은 침착이 거의 없음을 확인해 볼 수 있다. MD: 광화된 상아질, T: 상아세관, A: 접착 레진층. (B) CHX를 적용하지 않고 scotch bond I XT (3M ESPE)를 사용한 뒤 얻은 TEM (Trasnmission Electron Microscopy) 사진. 접착 레진층 (A)과 맞닿는 혼성층 (HL) 부위에서 많은 질산은 침착이 이루어져 큰 방울을 형성하고 있음을 확인해 볼 수 있다. - 이러한 질산은의 침착은 교원섬유가 가수분해 되어 물로 대체된 부분을 나타내는 것이다.*

또한 생체 내, 생체 외 실험에서 모두 CHX가 뒤이어 사용되는 접착제제의 물성 및 특성을 손상시키지 않으며 따라서 정상적인 혼성층을 형성하였다[52]. 그러나 이것은 장기간의 관찰결과가 아니기 때문에 장기적인 연구 및 자료축적이 필요하다. 요약하면. 레진 접착 시 CHX의 사용은 혼성층의 분해 및 미세누출을 유의할 만하게 감소시켜주며, 상아질-레진 접착을 보존시켜 수복물의 수명을 증가시켜준다[53].

2) 기타 다른 MMPs 억제제

MMPs의 억제제로 CHX 이외에도, 여러 가지가 있는데 그중 Galardin은 CHX와 유사하게 적용되며 그 기능이 같다. 차이점은 galardin의 경우 CHX보다 훨씬 더 낮

은 0.2 mM에서 억제효과를 나타난다는 것이다[54]. 또한 EDTA (ethylenediaminetetraacetic acid), BAC (benzalkonium chloride), Quarternary ammonium methacrylates, Tetracycline과 그의 반합성형태의 doxycycline, minocycline 등도 MMPs 억제제로서 주목받고 있으며, 향후 조금 더 많은 연구가 이루어진다면 CHX와 같이 활발히 사용될 수 있을 것이다.

요약 및 결론

상아질-레진 접착은 수복 후 시간이 지나면서 그 접착강도가 점점 줄어들면서 레진수복물의 내구성 및 안정성을 감소시키다. 그 원인 중 하나가, 접착 레진의 단량체가 탈회된 상아질 기질 내 교원섬유 사이로 완벽하게 침투하지 못해 혼성층 가장 하방에 노출된 상태의 교원섬유가 존재하기 때문이며. 이는 내인성 MMPs의 공격에 매우 취약하다. 결국 노출된 교원섬유는 MMPs의 작용으로 분해되게 되고, 연쇄적으로 혼성층의 균질성 및 온전성이 깨지면서 접착실패가 발생하게 된다. CHX는 현재 임상에서 가장 널리 또 성공적으로 이용되어지고 있는 MMPs 억제제로서, 다양한 방법으로 사용되고 있다. 상아질 표면에 CHX를 적용함으로서 내인성 MMPs의 활성이 억제되어 MMPs에 의한 교원섬유의 분해를 막음으로서 접착이 유지되고, 결과적으로 수복물의 수명, 내구성, 안정성이 증가된다. 또한 여러 연구에서, 단기적인 관찰이긴 하지만 CHX가 뒤이어 적용되는 접착 레진의 물성을 감소시키지 않으며 상아질-레진 접착 또한 방해하지 않음이 밝혀지면서, 접착에서의 CHX의 사용이 더욱 주목받고 있다.

하지만 임상에서 적용 시 이러한 CHX의 사용만으로 미세누출이나 수복물의 탈락으로 이어지는 수복의 실패를 100% 완벽하게 막을 수 없음을 반드시 알아야 하며, 아직까지 이러한 CHX에 대한 실험결과는 단기적인 결과로서 보다 추가적인 장기적 연구가 필요한 상태임을 숙지하고 사용하여야 한다.

요약하자면, 접착과정 시 MMPs 억제제로서 CHX의 사용은 혼성층 내의 교원섬유의 분해를 억제하여 상아질 접착의 내구성을 증가시키는 것 이외에도 수복물 주위의 이차우식의 발생을 막는 이점이 있다. 앞으로 새로운 접착시스템의 개발에 있어, 혼성층의 온전성 유지 및 레진 접착 수복물의 내구성 증진을 위해 이러한 MMPs 억제 기능을 보다 지속적으로 제공해 줄 수 있도록 하는 것이 중요할 것이다.

참 고 문 헌

1. Carrilho MR, Carvalho RM, Tay FR, Yiu C, Pashley DH. Durability of resin-dentin bonds related to water and oil storage. J Dent 2005;18:315-9.
2. Zhang SC, Kern M. The role of host-derived dentinal matrix metalloproteinases in reducing dentin bonding of resin adhesives. Circ Res 2009;92:827-39.
3. Strobel S, Hellwig E. The effects of matrix-metalloproteinases and chlorhexidine on the adhesive bond. Swiss Dent J 2005; 125:134-40.
4. Loguercio AD, Moura SK, Pellizzaro A, Dal-Bianco K, Patzlaff RT, Grande RH, et al. Durability of enamel bonding using two-step self-etch systems on ground and unground enamel. Oper Dent 2008;33:79-88.
5. Linde A. Dentin matrix protein: composition and possible functions in calcification. Anat Rec 1988;224:154-66.
6. 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 1992;71:1530-40.
7. Vaidyanathan TK, Vaidyanathan J. Recent advances in the theory and mechanism of adhesive resin bonding to dentin: a critical review. J Biomed Mater Res B App Biomater 2009;88:558-78.
8. Sano J, Takatsu T, Ciucchi B, Horner JA, Matthews WF, Pashley DH. Nanoleakage:leakage within the hybrid layer. Oper Dent 1995;20:18-25.
9. Liu Y, Tjaderhane L, Breschi L, Mazzoni A, Li N, Mao J, et al. Limitations in bonding to dentin and experimental strategies to prevent bond degradation. J Dent Res 2011;90(8):965-8.
10. Tjaderhane L, Nascimento FD, Breschi L, Mazzoni A, Tersariol IL, Geraldeli S, et al. Optimizing dentin bond durability: Control of collagen degradation by matris metaloproteinases and cysteine cathepsins. Dent Mater 2013;29:116-35.
11. Van Meerbeek B, De Munck J, Yoshida Y, Inoue S, Vargas M, Vijay P, et al. Buonocore memorial lecture. Adhesion to enamel and dentin: current status and future challenges. Oper Dent 2003; 28(3):215-35.
12. Brechi L, Mazoni A, Ruggeri A, Cadenargo M, Di Lenarda R, De Stefano Dorigo E. Dental adhesion review: aging and stability of the bonded interface. Dent Mater 2007;26:779-85.
13. Reis AF, Giannini M, Pereira PN. Long-term TEM analysis of the nanoleakage patterns in resin-dentin interfaces produced by different bonding strategies. Dent Mater 2007;23:1164-72.

14. Hashimoto M, Fujita S, Endo K, Ohno H. Effect of dentinal water on bonding of self-etching adhesives. Dent Mater J 2009;24:213-8.
15. Kim YK, Gu LS, Bryan TE, Kim JR, CHen L, Liu Y, et al. Mineralisation of reconstituted collagen using polyvinylphosphonic acid/polyacrylic acid templating matrix protein analogues in the presence of calcium, phosphate and hydroxyl ions. Biomaterials 2010;31:6618-27.
16. Scott JE, Thomlinson AM. The structure of interfibrillar proteoglycan bridges in extracellular matrix of fibrous connective tissues and their stability in various chemical environments. J Anat 1998;192:391-405.
17. Perdigao J, Reis A, Loguercio AD. Dentin adhesin and MMPs: A comprehesive review. J Esthe Res Dent 2013;25(4):219-41.
18. Tay FR, Pashley DH. Have dentin adhesives become too hydrophilic? J Can Dent Assoc 2003;69:724-31.
19. Ferrcane JL. Hygroscopic and hydrolytic effects in dental polymer network. Dent Mater 2006;22:211-22.
20. Carrilho MR, Carvalho RM, Tay FR, Yiu C, Pashley DH. Durability of resin-dentin bonds related to water and oil storage. Am J Dent Res 2005;86:90-4.
21. Chaussain-Miller C, Fioretti F, Goldberg M, Menashi S. The role of matrix metalloproteinases (MMPs) in human caries. J Dent Res 2006;85:22-32.
22. Pashely DH, Tay FR, Breschi L, Tjaherdane L, Carvalho RM, Tezvergil-Mutluat A. State of the art etch-and-rinse adhesives. Dent Mater 2010;27:1-16.
23. Carvalho RM, Chersoni S, Frankenberger R, Pashley DH, Prati C, Tay FR. A challenge to the conventional wisdom that simultaneous etching and resin infiltration always occurs in self-etch adhesives. Biomaterials 2005;26:1035-42.
24. Salz U, Zimmermann J, Zeuner F, Moszner N. Hydrolytic stability of self-etching adhesive systems. J Adhes Dent 2005;7:107-16.
25. Gross J, Lapiere CM. Collagenolytic activity in amphibian tissues: a tissue culture assay. Proc Natl Acad Sci USA 1962;48:1014-22.
26. Hannas AR, Pererira JC, Grangeiro JM, Tjaderhane L. The role of matrix metalloproteinases in the oral environment. Acta Odontol Scand 2007;65:1-13.
27. Sorsa T, Tjaderhane L, Salo T. Matrix metalloproteinases (MMPs) in oral diseases. Oral Dis 2004;10:311-8.
28. Pashley DH, Tay FR, Yiu C, Hashimoto M, Breschi L, Carvalho PM, et al. Collagen degradation by host-derived enzymes during aging. J Dent 2004;30:83-90.
29. Visse R, Nagase H. Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases: structure, function, and biochemistry. Circ Res 2003;92:827-39.
30. Zhang SC, Kern M. The role of host-derived dentinal matrix metalloproteinases in reducing dentin boding of resin adhesives. Int J Oral Sci 2009;1:163-76.
31. Perdigao J, Lambrechts P, Van Meerbeek B, Tome AR, Vanherle G, Lopes AB. Morphological field emission-SEM study of the effect of six phosphoric acid etching agents on human dentin. Dent Mater 1996;12:262-71.
32. Hebling J, Pashley DH, Tjaderhane L, Tay FR. Chlorhexidine arrests subclinical degradation of dentin hybrid layer in vivo. J Dent Res 2005;84 (8):741-6.
33. Tay FR, Pashley DH, Loushine RJ, Weller RN, Montecelli F, Osotio R. Self-etching adhesives increase collagenolytic activity in radicular dentin. J Endod 2006;32:862-8.
34. Carrilho MR, Geraldeli S, Tay F, de Goes MF, Carvalho RM, Tjaderhane L, et al. In vivo preservation of hybrid layer by chlorhexidine. J Dent Res 2007;86:529-33.
35. Mazzoni A, Mannello F, Tay FR, Tonti GA, Papa S, Mazzoti G, et al. Zymographic analysis and characterization of MMP-2 and -9 forms in human sound dentin. J Dent Res 2007;86:436-40.
36. Tersariol IL, Geraldeli S, Miniciotti CL, Nascimento FD, Paakkonen V, Martins MT, et al. Cysteine cathepsins in human dentin-pulp complex. J Endod 2010;36:475-81.
37. Wojtowicz-Praga SM, Dickson RB, Hawkins MJ. Matrix metalloproteinases inhibitors. Invest New Drugs 1997;15;61-75.
38. Carrilho MR, Carvalho RM, Sousa EN, Nicolau J, Breschi L, Mazzoni A, et al. Substantivity of chlorhexidine to human dentin. Dent Mater 2010;26:779-85.
39. Gendron R, Grenier D, Sorsa T, Mayrand D. Inhibition of the activities of matrix metalloproteinases 2,8 and 9 by chlorhexidine. Clin Diagn Lab Immunol 1999;6:437-43.
40. Scaffa PM, Vidal CM, Barros N, Gesteira TF, Carmona AK, Breschi L, et al. Chlorhexidine inhibits the activity of dental cysteine cathepsins. J Dent Res 2012;91:420-5.
41. Gendron R, Grenier D, Sorsa T, Mayrand D. Inhibition of the activities of matrix-metalloproteinases 2,8 and 9 by cholorhexidine. Clin Diagn Lab Immunol 1999;6:437-9.
42. Van Wart HE, Birdedal-Hansen H. The cysteine switch: a principle of regulation of metalloproteinase activity with potential applicability to the entire matrix metalloproteinase gene family. Proc Natl Acd Sci. USA 1990;87:5578-82.
43. Kim J, Uchiyama T, Carrilho M, Agee KA, Mazzoni A, Breschi L, et al. Chlorhexidine binding to mineralized versus demineralized dentin powder. Dent Mater 2010;26:77-82.
44. Tezvegril-Mutluay A, Mutluat MM, Gu LS, Zhang K, Agee KA, Carvalho RM, et al. The anti-MMP activity of benzalkonium chloride. J Dent 2010;39:57-64.
45. Stanislawczuk R, Amaral RC, Zander-Grande C, Gagler D, Reis A, Loguercio AD. Cholorhexidine-containing acid conditioner preserves the longevity of resin-dentin bonds. Oper Dent 2009;34:481-90.
46. Rosenthal S, Spangberg L, Safavi K. Chlorhexidine substantivity in root canal dentin. Oral Sur Oral Med 2004;98:488-99.

47. Moon PC, Weaver J, Brooks CN. Review of matrix metalloproteinases' effect on the hybrid dentin bond layer stability and chlorhexidine clinical use to prevent bond failure. Open Dent J 2010; 4:147-52.
48. Basrani B, Santos JM, Tjaherdane L, Gard H, Gorduyshs O, Huang J, et al. Substantivite antimicrobial activity in chlorhexidine-treated human root dentin. Oral Surgery Oral Medicine Oral Pathology ORal Radiology & Endodontics 2002;94:240-5.
49. Hjejord LG, Rolla G, Bonesvoll P. Chlorhexidine protein interactions. J Perio Res 1973;8:11-6.
50. De Munck J, Van den Steen PE, Mine A, Van Landuyt KL, Poitevin A, Opdenakker G, et al. Inhibition of enzymatic degradation of adhesive-dentin interfaces. J Dent Res 2009;88:1101-6.
51. Montagner AF, Sarkis-Onofre R, Pereira-Cenci T, Cenci MS. MMP inhibitors on dentin stability: A systemic review and meta analysis. J Dent Res 2014;96:733-43.
52. Brackett WW, Tay FR, Brackett MG, Dib A, Sword RJ, Pashley DH. The effect of chlorhexidine on dentin hybrid layer in vivo and in vitro. Oper Dent 2007;32:107-11.
53. Hebling J, Pashley DH, Tjaherdane L, Tay FR. Chlorhexidine arrests subclinical degradation of dentin hybrid layers in vivo. J Dent Res 2005;84:741-6.
54. Breschi L, Martin P, Mazzoni A, Nato F, Carrilho M, Tjaherdane L, et al. Use of a specific MMP-inhibitor (galardin) for preservation of hybrid later. Dent Mater 2010;26:571-8.