Journal of Korean Society of Oral Health Science
2025, December. 13(5): 1-8
pISSN: 2288-6079 / eISSN: 2635-6538
https://doi.org/10.33615/jkohs.2025.13.5.1

세륨옥사이드나오입자 첨가 글래스 아이오노머 시멘트의 기계적 특성, 항균성 및 생체적합성 평가

김동애[1] · 전수경[2‡]
[1]여주대학교 치위생과 부교수, [2]안산대학교 치위생학과 조교수

Influence of Cerium Oxide Nanoparticle Doping on Mechanical, Antibacterial, and Biocompatibility Properties of Glass Ionomer Cement

Dong-Ae Kim[1], Soo-Kyung Jun[2‡]
[1]Dept. of Dental Hygiene, Yeoju Institute of Technology, Associate professor
[2]Dept. of Dental Hygiene, Ansan University, Assist professor

Objectives: This study aimed to determine the optimal concentration ratio of cerium oxide nanoparticles (CeO_2-NPs) incorporated into commercial glass ionomer cement (GIC). The effects of CeO_2 addition on the Vickers hardness, antibacterial activity, and cytotoxicity of the GIC composites were evaluated.

Methods: Cerium oxide nanoparticles (CeO_2) were incorporated into commercial GIC at different weight percentages (wt%): 0.5%, 1%, and 2%. Specimens were then fabricated to evaluate Vickers hardness, antibacterial activity (against *Staphylococcus aureus*), and cytotoxicity.

Results: The incorporation of CeO_2 into GIC (Ce_GIC) maintained mechanical properties while enhancing antibacterial activity against *S. aureus* and improving cell viability. Significant antibacterial effects were observed at all Ce_GIC concentrations (0.5-2%), and higher cell survival rates were noted at 1% and 2% concentrations.

Conclusions: Therefore, these results suggest that as the concentration of CeO_2 nanoparticles in GIC increases, mechanical properties are improved and bioactivity(specifically antibacterial activity and cell viability) is enhanced.

Keywords Antibacterial assay, Bioactivity, Cerium oxide nanoparticle, Cytotoxicity, Glass ionomer cement

Received on Aug 19, 2025. Revised on Oct 22, 2025. Accepted on Oct 30, 2025.

‡ Corresponding Author (E-mail: iris979@ansan.ac.kr)

This work was supported by the National Research Foundation of Korea (NRF) grant funded by the Korea government (MSIT) (No.RS-2021-NR061563), (RS-2022-NR074016)

Ⅰ. 서론

치아우식증(dental caries)은 전 세계적으로 유병률이 매우 높은 대표적인 구강질환으로, 모든 연령층에서 광범위하게 발생한다[1]. 치료받지 않은 치아우식증은 치수염(pulpitis)과 치근단 감염(apical infection)으로 인한 치통을 유발하며, 심한 경우 치아 상실로 이어진다[2]. 적절한 치열 상태(poor dentition)는 저작, 발음 등 구강기능을 저하시킬 뿐만 아니라, 영양 상태 악화, 전신 건강 저하, 삶의 질(quality of life) 저하와도 밀접한 관련이 있다[3].

치아우식증의 주요 원인은 *Streptococcus mutans*에 의해 유발되지만 Iwabuchi[4]등은 *Streptococcus. aureus*와 *S. mutans*가 혼합 바이오필름을 형성하여 우식균은 *S. mutans*뿐 아니라 *S. aureus*도 복합적으로 바이오필름 형성 및 우식성 세균(cariogenic bacteria)임을 보고하였다. 이들은 탄수화물을 대사하여 젖산(lactic acid)을 생성하고, 이로 인해 수산화인회석(hydroxyapatite)이 점진적으로 탈회되어 치아 경조직이 파괴된다[2]. 따라서, 치아우식증 관리 전략은 우식으로 손상된 치아의 외형과 기능을 회복함과 동시에 구강 내 세균 수준을 조절하는 것을 목표로 하며, 전통적(conventional) 수복 방법과 생물학적(biological) 접근이 병행되고 있다[5].

임상적으로 널리 사용되는 글라스아이오노머 시멘트(glass

Copyright ⓒ 2025 by the Korean Society of Oral Health Science (KOHS).

ionomer cement, GIC)는 임상에서 널리 사용되는 수복 재료로, 칼슘플루오라이드(calcium fluoride), 산화알루미늄(aluminium oxide), 규산염(silicate) 등으로 구성된 분말상과, 중합성 수용성 산(polymeric water-soluble acid)을 함유한 액상으로 이루어진다[6].

GIC는 자연치아와 유사한 색조, 우수한 생체적합성, 치면에 대한 자가접착(self-adhesion), 불소 방출(fluoride release) 등의 장점을 지닌다[6]. 그러나 낮은 파절인성(fracture toughness), 부족한 마모저항성(wear resistance), 높은 물흡수 및 용해도와 같은 물리적 한계가 보고되었으며[6], 항균 효과 또한 제한적이다[7]. 실제로, GIC의 5년 생존율은 약 65%에 불과하며, 주요 실패 원인은 수복물 붕괴와 이차우식(secondary caries)이었다[8]. 이러한 이유로, 기존 GIC의 한계를 극복하고 항균성을 향상시킬 수 있는 소재의 개발이 필요하다. 특히, 장기적인 수복물 유지와 이차우식 예방을 동시에 달성할 수 있는 GIC의 기능 개선은 치과 임상에서 매우 중요한 과제로 여겨진다.

기존 GIC의 한계를 극복하기 위해, 다양한 첨가제를 활용하여 기계적 성질을 향상시키고 항균성을 부여하려는 시도가 이루어져 왔다. 치과용 시멘트 표면에 불화나트륨(sodium fluoride, NaF), 염화세틸피리디늄(cetylpyridinium chloride, CPC) 등을 처리하거나, 아연(zinc, Zn)과 은(silver, Ag)과 같은 다양한 무기물질이 나노입자 형태로 첨가하기도 하였다[8,9]. 그러나 이러한 항균제들은 재료의 색 변화를 유발하거나 기계적 강도가 낮아지는 문제를 나타내는 한계가 있다.

최근 항균 특성으로 알려진 무기물질인 세륨옥사이드나노입자(cerium oxide nanoparticles, CeO_2)에 관한 연구가 활발히 진행되고 있다[10,11]. CeO_2는 +3가(Ce^{3+})와 +4가(Ce^{4+})사이에서 전이하는 독특한 원자가 상태(valence state) 특성을 지닌 대표적인 희토류 화합물로, 생체적합성과 낮은 독성을 가지고 있다. 이러한 산화 환원 전이 특성 세포 내 활성산소종(reactive oxygen species, ROS)을 조절하고 병원성 미생물의 생존을 억제하는 것으로 보고되고 있다[10,12,13]. 특히 세륨 산화물 나노입자(cerium oxide nanoparticles, CeO_2)는 슈퍼옥사이드 디스뮤타아제(superoxide dismutase, SOD)와 유사한 항산화 작용을 나타내는 것으로 잘 알려져 있다[10].

세륨옥사이드나노입자는 지난 수십 년간 생의학적 응용을 위해 폭넓게 연구되어 왔다[12]. 이들은 강력한 항염 특성을 지니며, 안전하고 효과적인 사용 가능성으로 인해 연구 관심이 높다[13]. 세륨 및 세륨 산화물 기반 나노소재의 독특한 기능 기전은 낮은 독성과 병원성 미생물에 대한 우수한 항균 활성을 가능하게 한다. 이러한 기전은 세륨의 산화 상태가 Ce(III)와 Ce(IV) 사이에서 가역적으로 변화하는 특성에 기인한다[10]. 또한 CeO_2는 수복용 복합재의 충전 나노입자로 사용되었으며, 우수한 항균 효과를 나타내는 것으로 보고되었다[14].

그러나, CeO_2를 치과용 글라스아이오노머 시멘트에 첨가하여 기계적 성질, 세포독성, 항균 효과를 통합적으로 평가한 연구는 연구는 아직 미비한 실정이다.

이에 본 연구에서는 다음의 가설을 설정하였다.

CeO_2를 적정 농도로 첨가하면, 글라스아이오노머 시멘트(GIC)의 기계적 강도 및 항균 성능이 향상되면서도 세포독성은 증가하지 않을 것이다.

이를 검증하기 위해 다양한 농도의 CeO_2를 글라스 아이오노머 시멘트(GIC)에 첨가하였으며, 증류수 침전 전.후 비커스 경도를 통해 해당 기계적 물성을 평가하고 세포독성 및 항균 효과를 종합적으로 분석하였다.

본 연구는 GIC의 기존 기능적 한계를 보완할 수 있는 새로운 나노입자 복합체의 가능성을 확인하고, 향후 임상 적용 가능성을 파악하기 위한 CeO_2의 최적 농도 설정을 위한 기초 자료를 제공하는데 그 의의가 있다.

Ⅱ. 연구방법

1. 연구재료

1) CeO_2를 첨가한 GIC 제조방법

글라스 아이오노머 시멘트(GI Fuji Ⅱ, Tokyo, GC corporation, JAPAN 2406111, Lot number P: 2046111, L: 2046111)를 사용하였다. CeO_2를 무게비(wt %)로 계산하여 Ce_GIC 0%, Ce_GIC 0.5%, Ce_GIC 1.0%, Ce_GIC 2.0%를 첨가하여 균일하게 혼합될 수 있도록 지르코니아 볼을 사용한 볼밀(Ball mill, PM100CM; Federal Repulic of Germany)을 이용하여 복합 분말을 제조하였다.

2. 연구방법

1) 비커스 경도 측정

비커스 경도 측정을 위한 시편은 두께 2 mm, 직경 10 mm의 테플론 몰드에 시멘트를 충전한 뒤, 양면에 셀룰로이드 스트립(celluloid strip)을 놓고 슬라이드 글라스(slide glass)로 압착하여 제작하였다. 이후 제조사의 지침에 따라 경화시킨 후, 다이아몬드 압입자(diamond indenter)가 장착된 미세경도 측정기(micro

Vickers hardness tester, THM-221; Mitutoyo, Kanagawa, Japan)를 이용하여 미세경도를 측정하였다.

측정은 압입 하중 500 gf, 하중 유지 시간(load time) 10초의 조건에서 수행하였으며, 압흔이 형성된 후 10배율에서 다이아몬드형 압흔의 두 대각선 길이를 측정하여 비커스 경도값(Vickers hardness number, VHN)을 산출하였다.

각 시편은 무작위로 선정한 3 부위에서 측정하였고, 각 군별로 1일 경과군 30개, 7일 경과군 30개를 제작하여 총 60개의 시편을 사용하였다. 비커스 경도 값은 장비에서 자동으로 계산되었으며, 각 시편에 대해 3회 측정한 값을 평균값과 표준편차를 산출하였다.

3. 항균 평가

항균평가는 구강 내 병원성 세균 균주인 그람양성균 *S. aureus* (*S. aureus* ATCC 6538, USA)를 TSA 평판 배지에서 35°C ± 2 °C에서 18시간 동안 배양하였다. 배양된 균주는 PBS를 이용해 희석하여 *S. aureus* 세균 농도를 맞춘 뒤, 희석된 세균 현탁액 100 μL를 멸균 면봉으로 각각 TSA 평판 배지(100 mm × 15 mm)에 균일하게 도말하였다. 배지 표면을 3~5분간 건조시킨 후, 에틸렌가스(EO50 system, Person Medical, Gunpo-si, Gyeonggi-do, Korea)로 멸균한 페이퍼 디스크(직경 6 mm, 두께 0.7 mm)를 배지 위에 올리고 핀셋으로 눌러 한천 표면과 완전히 밀착시켰다.

예비 선별시험(screening test)에서는 *S.aureus*가 도말된 평판 배지의 페이퍼 디스크 위에 시료(Ce_GIC 0%, Ce_GIC 0.5%, Ce_GIC 1.0%, Ce_GIC 2.0%) 20 μL를 도포하였다. 이후 배지는 35°C ± 2°C에서 12시간 동안 배양하였다. 배양 후에는 디스크 중심을 가로질러 양쪽 가장자리까지의 저해환 (Zone of inhibition)을 측정하여 항균활성을 비교하였다. 모든 실험은 동일한 조건에서 7회 반복 수행하였다.

4. 세포배양

세포독성 평가는 Human gingival fibroblasts (hGFs) 세포를 사용하였다. 23세 여성 환자의 발치 수술 중 채취한 치은 조직 시료에서 분리하였다. 조직 시료 채취는 단국대학교 치과병원 구강악안면외과의 기관생명윤리위원회(Institutional Review Board, IRB) 승인(DKUDH IRB)을 받은 후 진행하였다. 조직은 1% penicillin/streptomycin(PS)이 포함된 HBSS에 보관 후, 2% PS가 포함된 PBS로 세척하여 오염을 최소화하였다. 혈관 제거 후, 치은 조직은 collagenase type I(2 mg/mL)과 dispase II(4 mg/mL)를 포함한 효소 용액에서 37 °C에서 1시간 동안 처리하였다. 이후 상피층을 분리하여 약 1 × 1 mm^2 크기로 절단한 뒤, culture plate(60 mm, Falcon)에 부착하여 1차 세포(primary cells)를 확보하였다. 절단된 조직은 α-MEM 배지(10% FBS, 2 mM L-glutamine, 100 mM NEAA, 55 μM 2-mercaptoethanol, 1% PS)에서 배양하였다[15]. 배지는 초기 48시간 후와 이후 23일 간격으로 교환하였다. 이후 1차 세포를 계대배양 하였으며, 8~10계대 세포를 실험에 사용하였다.

5. 세포독성평가

HGF를 24 웰 플레이트(3×10^4cells/mL)에 접종 후 37°C, 5% CO_2에서 24시간 배양하였다. Ce_GIC 0%, Ce_GIC 0.5%, Ce_GIC 1.0%, Ce_GIC 2.0% 시편을 3 cm^2/mL의 비율로 α-MEM 배지(Gibco BRL, Grand Island, NY, USA)에 담지한 후, 인큐베이터에서 24시간 동안 배양한 후 용출액을 회수하여, 배지만을 포함한 용액을 대조군으로 설정하고, 배지를 사용하여 단계적으로 100%, 50%, 25%, 12.5%, 6.25% 농도로 희석하였다. 각 희석 용출액의 세포독성은 10% CCK-8 용액(1 mL)을 첨가해 37°C에서 2시간 반응시킨 뒤, 상층액 100 μL를 96 웰 플레이트에 옮겨 450 nm에서 분광광도계(SpectraMax M2e, Molecular Devices)로 흡광도를 측정하였다. 또한, 살아있는 세포와 사멸한 세포의 이미지는 디지털 이미징 시스템(Celena®S, Logos Biosystems, Anyang-si, Gyeonggi-do, South Korea)을 사용하여 촬영하였다.

6. Live and Dead 평가

Calcein-AM과 ethidium homodimer-1이 포함된 LIVE/DEAD™ Viability/Cytotoxicity Kit (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA)를 사용하여 분석하였다. 살아있는 세포는 녹색, 사멸한 세포는 적색으로 염색하였으며, 형광현미경(IX71, Olympus, Tokyo, Japan)으로 관찰하였다.

7. 자료분석(통계분석)

통계분석은 SPSS Statistics 21 (SPSS Inc, Chicago, USA)을 이용하였으며, 정규성 검정을 통해 정규성을 확인하고 비커스 경도의 통계적 비교와 항균실험 및 세포독성 평가는 one-way ANOVA를 사용하고 사후분석으로 Tukey Honestly Significant Difference(HSD)로 분석하여 유의수준 $p<0.05$로 하였다.

Ⅲ. 연구결과

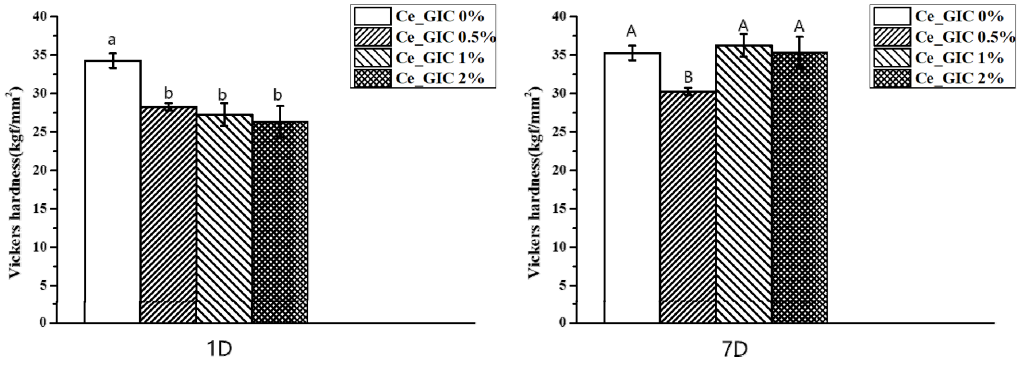
1. 비커스 경도(Vickers Hardness)

Ce_GIC의 비커스 결과는 <Figure 1>에 나타내었다. 5개 실험군(대조군[0%], 0.5%, 1.0%, 2.0%)의 표면 경도 값을 제작 후 24시간 경과 시점과 증류수에 7일 침전 후 시점에서 비교한 결과를 나타낸 것이다. 제작 후 24시간 후에는 각각 Ce_GIC 0%(34.23 kgf/mm^2), Ce_GIC 0.5%(28.13 kgf/mm^2), Ce_GIC 1.0%(27.65 kgf/mm^2), Ce_GIC 2.0%(26.14 kgf/mm^2)로 통계적으로 유의한 차이가 나타났다(p<0.05).

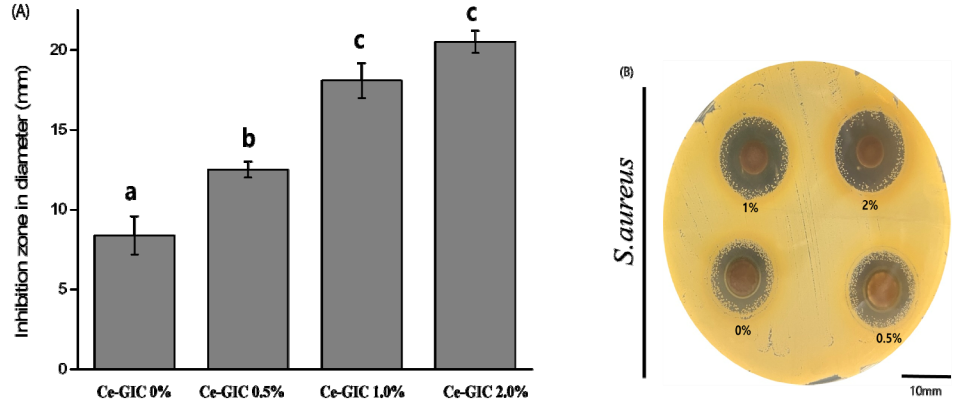
7일 침전 후 경도값은 Ce_GIC 0.5% (30.00 kgf/mm^2), Ce_GIC 0% (35.12 kgf/mm^2), Ce_GIC 2.0% (35.78 kgf/mm^2), Ce_GIC 1.0%(36.89 kgf/mm^2) 순으로 Ce_GIC 0.5% 군이 다른 군에 비해 유의하게 낮았다(p<0.05).

2. 항균평가

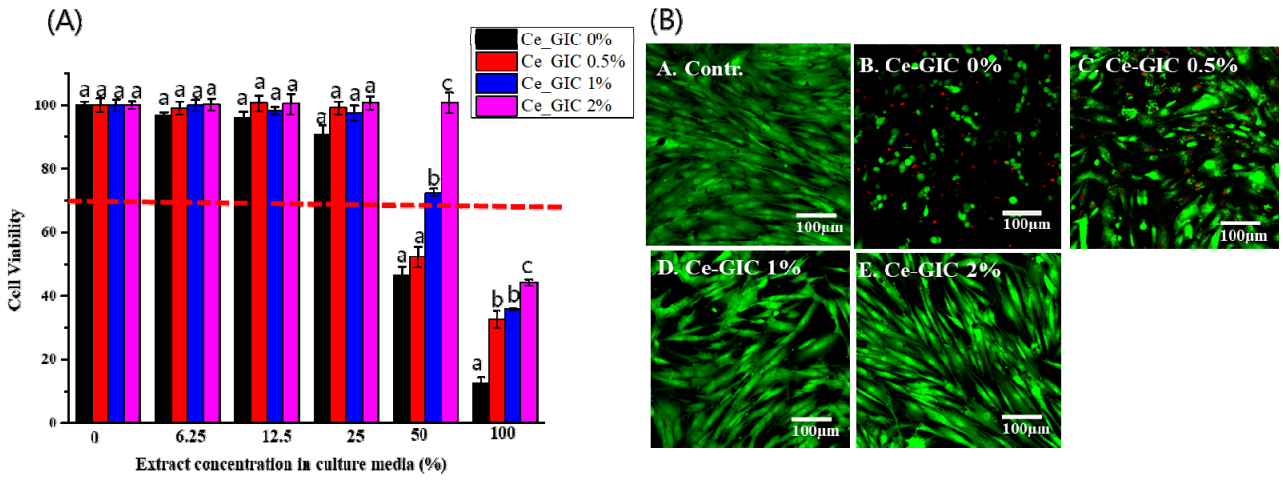
구강 내 바이오필름 및 치아우식증과의 밀접한 연관성으로 인해 *S. aureus*에 대한 Ce_GIC 항균평가 결과는 <Figure 2>에 나타내었다. 그 결과, 모든 농도에서 평균 8.39 mm 이상의 저해환을 형성하며 항균 활성을 나타냈다. Ce_GIC 0.5%, Ce_GIC 1.0%, Ce_GIC 2.0% 농도에서 각각 평균 12.51 mm, 18.08 mm 와 20.50 mm로 이는 군 간의 통계적으로 유의성 있는 차이를 확인할 수 있었다(p<0.05). 실험결과 CeO_2 함량이 증가할수록 평가된 균주 전체에 대한 항균 효과가 향상되는 경향을 보여, 이러한 항균 효과가 CeO_2에서 유리되는 이온의 존재와 관련이 있음을 보였다.



<Figure 1> Vickers hardness of various concentrations of Ce_GIC before and after 1 week of storage in water (n=30). Same lower case letters indicate no significance different (p<0.05).



<Figure 2> (A) Measurements of inhibition halo diameter of all samples against Gram-positive (*S. aureus*) bacteria. Same lower case letters indicate no significance different (p<0.05).
(B) Zones of inhibition against antibiotics at different concentrations.



<Figure 3> (A) Results of cell viability at various concentrations of extracts from Ce_GIC 0.5, 1, 2% added. (B) Live and dead cells exposed to 50% concentrations of extracts from Ce_GIC 0.5, 1, 2% added. Live (green) and dead(red) cells were observed by the digital imaging system. Different letters indicate significant differences among the extract conditions (p<0.05).

3. 세포독성평가

Ce_GIC 세포독성평가는 <Figure 3>에 나타내었다. 단계별로 용액을 희석한 농도 100%에서 모든 시편에서 ISO 10993-2 기준인 70%의 세포 생존율을 보이지 않았으며, 50%에서는 Ce_GIC 0%와 Ce_GIC 0.5%에서만 독성이 나타났다. 이는 통계적으로 유의한 차이를 보였다(p<0.05)

Ⅳ. 고찰

글라스아이오노머 시멘트(glass ionomer cement, GIC)는 기저재 및 수복재로서, 특히 유치 수복과 외상 최소 수복치료(atraumatic restorative treatment, ART)에 널리 사용되어 왔다[6]. GIC는 우수한 생체적합성과 지속적인 불소 방출 특성을 지니고 있어, 이차우식(recurrent caries) 예방에 활용되고 있다[6,16]. 그러나 GIC에서 방출되는 불소의 양은 제한적이기 때문에 항균 효과는 미흡한 수준에 그친다[16]. 이러한 한계를 개선하기 위해 수복물의 물리적 성질과 수명을 저해하지 않으면서 이차우식을 예방할 수 있는 경제적이고 효과적인 항균 소재가 필요하다. 이에 본 연구는 GIC에 첨가된 소재가 기계적 특성뿐 아니라 항균효과 및 세포독성을 복합적으로 평가함으로써, GIC의 임상적 적용 가능성을 평가하고자 하였다.

선행 연구에서는 GIC의 항균성과 물리적 성질을 개선시키기 위해 다양한 물질을 첨가하는 연구가 활발히 진행 되어왔다[6, 8,10]. 특히 은(Ag), 구리(Cu) 등과 같은 항균제를 첨가하여 항균 효과를 확인한 연구가 다수 보고되었으나[8-10,17], 변색, 기계적 강도 저하, 세포독성 등의 문제가 지속적으로 제기되고 있다.

이에 본 연구에서는 이러한 문제점을 개선하기 위해 항산화 및 항균 특성을 가진 CeO_2를 활용하였다. CeO_2는 산화 스트레스와 염증을 조절하는 능력 외에도 우수한 항균성을 지닌다[12-14]. CeO_2의 항균 효과를 치면열구전색제에 적용하여 입증한 연구는 보고된 바 있으나[18], GIC에 물리적 성질과 세포독성을 종합적으로 평가한 연구는 미비한 실정이다.

치과 임상에서 많이 사용하고 있는 글라스아이오노머 시멘트(GIC)에 CeO_2를 0~2%를 첨가하였다. CeO_2를 첨가하지 않은 GIC를 대조군으로, 농도별 첨가한 실험군으로 설정하여 비커스 경도, 항균성, 세포독성을 평가하였다.

비커스 경도 결과는 시편 제작 24시간 경과 후 측정한 실험군에서는 CeO_2가 함유되지 않은 Ce_GIC 0%에서 높았으며, 7일 침전 후 측정한 실험군에서는 Ce_GIC 0.5% 실험군에서 가장 낮은 경도값이 나타났으며, 통계적으로 유의한 차이를 보였다(p<0.05). 구강 내 환경을 고려할 때 7일 침전 후 측정한 실험군은 CeO_2 첨가량이 증가할수록 경도값이 높았으나 1.0%와 2.0% 실험군은 Ce_GIC 0%와 비교해 유의한 차이는 나타나지 않았다(p>0.05). Ce_GIC 0.5% 실험군에는 경도값이 낮게 나타냈다.

이러한 결과는 일부 선행연구에서 보고된 바와 같이, 항균제 첨가시 GIC의 기계적 특성에 미치는 효과가 미비하다는 결과와 일치하였으나[19], Jairam[11] 등 연구에서는 비커스경도가 향

상되었다고 보고하여 본 연구와 다른 경도 값을 나타내었다.

이와 같이 경도 결과가 다르게 나타난 원인은 선행연구에서는 단순 경도를 측정하였으나 본 연구는 증류수에 침전 전・후 경도 변화를 비교 분석한 이유로 판단된다. 또한 CeO_2 나노입자의 높은 비표면적(specific surface area)으로 인한 입자 사이의 응집(aggregation) 현상 차이가 주요 원인으로 보여진다[11,20]. 응집현상이 발생하면 나노입자가 시멘트 기질 내에 균일하게 분산되지 못하고, 특정 부위에 덩어리 형태로 집중된 구조적 불균일성은 결합력 저하와 함께 하중 전달 결함으로 기계적 특성을 약화시키는 것으로 보여진다[21,22]. 또한, 복합체 제조 과정에서 CeO_2 입자와 GIC 기질 사이의 분산 불균형으로 미세한 기공(poroisity)이 형성될 수 있으며. 이러한 기공은 비커스 경도 감소에 영향을 미치는 원인으로 파악된다. 따라서 향후 나노입자의 응집을 억제하고 분산 향상을 위한 분산 방법에 관한 추가적인 연구가 필요할 것으로 사료된다

구강 내 바이오필름과 직접적인 연관성이 있는 그람양성균인 *S. aureus*에 대해 GIC에 CeO_2를 첨가하여 한천 확산법(agar diffusion method) 항균 효과를 평가하였다.

본 연구 결과, CeO_2 첨가량이 증가할수록 GIC의 항균성이 향상되었으며, 이는 CeO_2의 존재와 관련이 있음을 시사한다. 위 결과는 *S. aureus*에 대한 항균 활성을 보고한 연구결과와 일치하였다[10]. CeO_2의 항균 효과를 입증한 연구는 다수 보고되어 있으나[10,12-14,18], 세균을 사멸시키는 정확한 작용기전은 아직 명확히 규명되지 않았다. 제시된 기전 중 하나는 Ce^{3+} 이온이 세포질로 침투하여 세포의 내인성 호흡에 간섭하고 인산화합물 및 단백질과 상호작용하는 것이다[11-14]. 또한, Ce^{3+}와 Ce^{4+} 산화 상태 간의 용이한 전환은 세균에 대해 산화 스트레스를 유발하여 세포사멸을 초래하는 것으로 알려져 있다[10,12-14].

특히 그람양성균과 그람음성균의 세포막에 존재하는 음전하(negative charge) 부위가 세륨 산화 나노입자(CeO_2 NPs)의 항균 활성에 관여한다고 보고하였다[10,18,23]. 추가적으로, 세륨 산화 나노입자(CeO_2 NPs)는 세균의 외부 세포막에 흡착된 후, 세포막에 존재하는 단백질을 직접적으로 공격할 수 있다[11, 18,23]. 방출된 세륨 이온(Ce ions)은 세균의 호흡(respiration) 및 전자 흐름(electron flow)을 변화시키고, 설하이드릴기(sulfhydryl group, -SH)와 반응하거나, 포린(porins)이나 수송 단백질(transporters)을 통해 세포 내부로 흡수될 수 있다[23]. 이러한 작용은 대사물질 및 영양분의 수송을 차단하여 세균의 병원성 인자(virulence factors) 분비에 영향을 미치고, 감염 부위의 미세환경을 개선할 수 있다고 하였다. 이러한 기전으로 항균성이 높아졌다고 사료된다.

본 연구는 단일 균주 *S. aureus*만을 대상으로 하였기에, 구강 내에 상주하는 중요한 *S. mutans, Lactobacillus spp., Candida spp.* 등 다양한 균주와 혼합 biofilm 환경 평가가 추가적으로 필요하다.

치과 재료에서는 물성뿐만 아니라 생체친화성(biocompatibility) 역시 매우 중요한 요소이며, 이를 평가하기 위해 주로 세포독성 평가(cytotoxicity test)가 사용된다. 일반적으로 대부분의 치과용 시멘트는 경화 초기에는 세포독성이 높으나, 시간이 경과하면서 타액의 완충작용으로 독성이 감소하게 된다[24]. 여러 세포독성 평가 방법 중 MTT assay는 대표적인 효소 활성 측정법으로, 살아 있는 세포의 미토콘드리아 내 탈수소효소(dehydrogenase)가 노란색의 MTT를 물에 녹지 않는 청색의 MTT-formazan으로 환원시키는 반응을 이용한다. 세포독성으로 인해 탈수소효소 활성이 저하되면 formazan 형성이 감소하게 되며, 이를 광학적 밀도(optical density)로 측정하여 세포 생존율과 독성을 평가하는 방법이다[24].

ISO 10993-12 규격에 따르면, 세포 생존율(cell viability)이 70% 이상일 경우 해당 재료는 비독성(non-cytotoxic)으로 평가된다.

본 연구에서 타액이 존재하는 구강 환경을 모사하기 위해 단계적으로 희석한 시료를 이용한 결과, 100% 농도에서는 모든 실험군에서 세포독성을 보였다. 그러나 50% 농도에서 CeO_2의 첨가량이 높아질수록 특히 Ce_GIC 1.0%와 2.0%에서 혼합하였을 때 세포독성이 관찰 되지 않았다. 이는 수많은 연구에서 적정 농도의 세륨 산화물 나노입자(CeO_2 NPs)를 함유한 재료가 창상(wound) 치유를 촉진할 수 있음이 보고되었다는 결과와 연관성이 있다[10,13]. CeO_2 NPs의 세포내 항산화 효과는 주로 미세혈관 내피세포(microvascular endothelial cells, VECs), 각질형성세포(keratinocytes), 섬유아세포(fibroblasts)의 세 가지 핵심 세포를 표적으로 한다고 보고되었다[10]. 이러한 항산화 효과를 기반으로, CeO_2 NPs는 세포를 보호하고 산화스트레스 유도 세포자멸사(apoptosis)를 감소시키며, 세포 생존율을 향상시킨다고 하였다[18,23]. 이는 치은 섬유아세포를 사용한 본 실험의 결과와도 일치하였다[10]. 기존 연구에서도[18,23] CeO_2는 클라트린 매개 엔도사이토시스(clathrin-mediated endocytosis)를 통해 세포로 유입되며, 이후 핵(nucleus), 세포질(cytoplasm), 미토콘드리아(mitochondria), 소포체(endoplasmic reticulum)에 분포하여 적정 농도의 CeO_2 NPs는 섬유아세포와 각질형성세포의 증식(proliferation) 및 이동(migration)을 촉진하고, VECs의

이동과 관 형성 능력(tube-forming ability)을 가속화는 것으로 보여진다. 하지만 CeO_2 함량이 6 wt %를 초과할 경우 손상된 세포에 위해 작용을 하여 증식 활성을 나타내지 못했다고 한 연구결과도 있었다[25]. 이에 Ce_GIC 1.0~2.0% 농도에서는 세포증식을 할 수 있는 적정 농도라고 보여진다. 따라서 향후 적정농도에서 항산화 작용 및 pH 변화에 따른 구조적 변화와 환경에서의 치유창상과 관련된 in vivo 연구평가가 이루어져야 할 것으로 사료 된다.

본 연구는 CeO_2 입자를 상업용 글라스아이오노머 시멘트(GIC)에 농도별로 첨가하여 비커스 경도, 항균평가, 세포독성을 연구하였다. CeO_2의 첨가량에 따라 세포 내에서의 항산화 작용뿐만 아니라 상처 국소 미세환경에서 ROS 제거, 염증 조절, 산화 손상 방어에 대한 정확한 작용과 기전에 대하여 명확히 밝히지 못한 미흡한 부분이 있으나 CeO_2의 첨가량이 증가 할수록 경도를 저해하지 않으며, 항균효과와 세포 증식이 높아졌음을 확인하였다. 이는 CeO_2가 기계적 물성을 유지하면서 생물학적 기능을 개선할 수 있음을 입증한 점에서 큰 의미가 있다. 추후 CeO_2의 분산방법의 개선 및 적정한 농도에서 상처치유 과정 및 항산화 효과에 대한 심도 있는 연구가 필요할 것으로 생각된다.

V. 결론

본 연구는 기존의 글라스 아이오노머 시멘트에 CeO_2를 첨가하여 경도, 항균 및 세포독성 평가에서 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 비커스 경도는 1일 차에서 Ce_GIC 0%에서 유의한 차이가 있었으며($p<0.05$), 7일 침전 후 측정한 실험군에서는 Ce_GIC 0.5%에서 유의한 차이를 보였다($p<0.05$).
2. *S. aureus*에 대한 Ce_GIC 항균평가 결과 Ce_GIC 0.5%, Ce_GIC 1.0%, Ce_GIC 2.0% 농도에서 군 간의 통계적으로 유의한 차이가 나타났다($p<0.05$).
3. 세포독성 시험 결과에서 50% 농도에서 Ce_GIC 1.0%와 Ce_GIC 2.0%에서 세포생존률이 높은 것으로 나타났다.

위의 연구결과로 GIC에 CeO_2를 1.0~2.0% 첨가하였을 때 기계적 성질을 유지하면서 항균성 및 세포생존율을 높일 수 있는 적절한 농도로 판단된다. 따라서 CeO_2가 첨가된 GIC는 새로운 생체친화적 수복재로서의 잠재력을 지니며, 향후 임상 적용을 위한 기초자료로 활용될 수 있을 것으로 사료된다.

REFERENCES

1. Ian T, Carole D, Joel DI, Isbelle DG: High frequency of dental caries and calculus in dentitions from a British medieval town. Archives of oral biology 155:105777, 2023. DOI: 10.1016/j.archoralbio.2023.105777
2. Ching YJ, Chia WH, Ming CL: Increased dental visits in patients with rheumatoid arthritis: a secondary cohort analysis of population-based claims data. BioMed Central oral health 22(1):609-623, 2022. DOI: 10.1186/s12903-022-02661-w
3. Jasneet S, Girish MS, Lkoretigire V: Assessing clinical sequelae of untreated caries among 5-, 12-, and 15-year-old school children in Ambala district: a cross-sectional study. Journal of the Indian Society of Pedodontics and Preventive Dentistry 36(1):15-20, 2018. DOI: 10.4103/JISPPD.JISPPD_97_17
4. Iwabuchi Y, Yoshida H, Kamei S, Uematsu T, Saito M, et al: Formation of Mono -Organismal and Mixed Staphylococcus aureus and Streptococcus mutans Biofilm in the Presence of NaCl. Microorganisms, 13(5), 1118, 2025. DOI: 10.3390/microorganisms13051118
5. Sherry SG, Kitty JC, Duangporn D, May CMW, Edward CML, et al: Arresting early childhood caries using silver and fluoride products—A randomised trial. Journal of dentistry 103:103522, 2020. DOI: 10.1016/j.jdent.2020.103522
6. Sharanbir KS, John WN: A review of glass-ionomer cements for clinical dentistry. Journal of functional biomaterials 28(7):16-26, 2016. DOI: 10.3390/jfb7030016
7. Zeidan NK, Enany NM, Mohamed GG, Marzouk ES: The antibacterial effect of silver, zinc-oxide and combination of silver/ zinc oxide nanoparticles coating of orth odontic brackets (an in vitro study). BMC oral health 22(1):230, 2022. DOI: 10.1186/s12903-022-02263-6
8. Eman HA, Hamdi HH, Hooi PC, Marmar M, et al: Secondary caries and marginal adaptation of ion-releasing versus resin composite restorations: a systematic review and meta-analysis of randomized clinical trials. Scientific reports 10;12(1): 19244, 2022. DOI: 10.1038/s41598-022-19622-6
9. Mariusz S, Wiktoria S, Adam P, Karol G, Wieslaw G, Adam V: Characterization of magnesium and Zinc forms

of Sodalite coatings on Ti6Al4V ELI for potential application in the release of drugs for osteoporosis. Materials 17; 16(4):1710, 2023.
DOI: 10.3390/ma16041710

10. Silvia RG, Ana SP, Isabel SN, Jorge CS, Joao PB, Luis CC, Manuel PFG: Biocompatibility, bioactivity, and antibacterial behaviour of Cerium-containing bioglass®. Nanomaterials 19;12(24):4479, 2022.
DOI: 10.3390/nano12244479
11. Jairam LS, Chandrashekar A, Prabhu TN, Arjun A, et al: Antibacterial and mechanical properties of cerium oxide nanoparticles modified glass ionomer cement Materials Chemistry and Physics 315:129040, 2024.
DOI: 10.1016/j.matchemphys.2024.129040
12. Tengfei M, Xinyun Z, Yongkang H, Mengzhen Z, et al: A Smart nanoplatform with photothermal antibacterial capability and antioxidant activity for chronic wound healing. Advanced healthcare materials 10(13):e2100033, 2021.
DOI: 10.1002/adhm.202100033
13. Tao W, Yiru L, Erik JC, Chang L, Jianzhong D: Combined antioxidant-antibiotic treatment for effectively healing infected diabetic wounds based on polymer vesicles. American Chemical Society nano 25;15(5):9027-9038, 2021.
DOI: 10.1021/acsnano.1c02102
14. Byun SY, Han AR, Kim KM, Kwon JS: Antibacterial properties of mesoporous silica coated with cerium oxide nanoparticles in dental resin composite. Scientific reports 3;14(1):18014, 2024.
DOI: 10.1038/s41598-024-69102-2
15. Zhaoming Deng, Lerong Yu, Yishen Kuang, Ziyao Zhou et al: Highly Ordered Nanotube-Like Microstructure on Titanium Dental Implant Surface Fabricated via Anodization Enhanced Cell Adhesion and Migration of Human Gingival Fibroblasts Cells. Int J Nanomedicine 8:19:2469-2485, 2024.
DOI: 10.2147/IJN.S448743
16. Cher F, Josette C: Antimicrobial properties of conventional restorative filling materials and advances in antimicrobial properties of composite resins and glass ionomer cements-A literature review. Dental materials 31(4):e89-99, 2015.
DOI:10.1016/j.dental.2014.12.005
17. Spencer L, Jessica H, Francis M, Kresimir P, et al: The effect of zeolite incorporation on the physical properties of silver-reinforced glass ionomer cement. Journal of materials science 11;33(4):38-48, 2022.
DOI: 10.1007/s10856-022-06659-2
18. Lee SS, Park YM, Kim DA: Changes in the amount of adhesion of Stereptococcus mutans to pit and fissure sealant incorporating cerium oxide nano particles(CNPs). Jouranl of Korean Society of Dental Hygiene 20(4):535-543, 2020.
DOI: 10.13065/jksdh.20200049
19. Cristiane D, Kelly LA, Jesse AP, Glaucia ST, et al: In vitro and in vivo evaluations of glass-ionomer cement containing chlorhexidine for Atraumatic Restorative Treatment. Journal of applied oral science : revista FOB 25(5):541-550, 2017.
DOI: 10.1590/1678-7757-2016-0195
20. Jancar J, Douglas JF, Starr FW, Kumar SK, et al: Current issues in research on structure-property relationships in polymer nanocomposites. Polymer 51(15):3321-3343, 2010.
DOI: 10.1016/j.polymer.2010.04.074
21. Sharifzadeh E, Karami M, Ader F: Formation of nanoparticle aggregates and agglomerates in polymer nanocomposites and their distinct impacts on the mechanical properties. Polymer Engineering & Science, 63(4):1303-1313, 2023.
DOI: 10.1002/pen.26284
22. Zare Y, Rhee KY, HUI D: Influences of nanoparticles aggregation/agglomeration on the interfacial/interphase and tensile properties of nanocomposites. Composites Part B: Engineering, 122: 41-46,2017.
DOI: 10.1016/j.compositesb.2017.04.008
23. Dale AP, Anil KS, Gregory AH, Catherine KM, et al: Effects of engineered ceriumoxide nanoparticles on bacterial growth and viability. Applied and environmental microbiology. 76(24):7981-7989, 2010.
DOI: 10.1128/AEM.00650-10
24. Korea Association of Dental Materials Professors, Dental Materials 8th edition, Koonja, pp.281- 288, 2020.
25. Zihan Z, Xueying C, Heming C, Jue Z, et al: Cerium-containing mesoporous bioactive glass nanoparticles reinforced 3D-printed bioceramic scaffolds toward enhanced mechanical, antioxidant, and osteogenic activities for bone regeneration. Advanced healthcare materials 14(9):e2404346
DOI: 10.1002/adhm.202404346