

Comparison of the Rate of Demineralization of Enamel using Synthetic Polymer Gel

June-Hang Lee, Jisun Shin, Jongsoo Kim

Department of Pediatric Dentistry, School of Dentistry, Dankook University

Abstract

Carbopol® 907 used as surface protecting agent in White's method is the one of the artificial caries lesion producing solution was discontinuing of production. New surface protecting material to substitute of Carbopol® 907 was required.

The author prepared an artificial caries lesion producing solution as follows White's method with Carbopol® 907 and also another artificial caries lesion producing solution with Carbopol® 2050®.

96 flattened and polished enamel samples were immersed in a demineralizing solution of 0.1 mol/L lactic acid, 0.2% carboxyvinylpolymer and 50% saturated hydroxyapatite for 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 9, 11, 15, 18 and 20 days. All samples from each group were subjected to polarized microscopy observed and image analysis for measuring the lesion depth.

From the review of polarized images, the artificial caries lesion producing solution using Carbopol® 907 and Carbopol® 2050 can produced an artificial caries that was very similar to natural caries characters.

From the regression analysis of the lesion depth produced by the artificial caries lesion producing solution using Carbopol® 907 and Carbopol® 2050, Carbopol® 2050 estimate as $Y = 9.8X + 8.0$ and Carbopol® 907 was $Y = 8.4X - 0.4$. R square value of Carbopol® 2050 and Carbopol® 907 was 0.965 and 0.945 respectively.

The rate of demineralization by the artificial caries lesion producing solution using Carbopol® 2050 was faster than that of Carbopol® 907. And R square value of Carbopol® 2050 and Carbopol® 907 were very high and it means that the lesion depth was very high coefficient to demineralization period.

Key words : Ploymer gel, surface protecting agent, Carbopol, Demineralization, Enamel

I. 서 론

1890년 Miller에 의해 치아우식증 발생 이론이 발표된 이후 많은 학자들은 치아우식증의 발생 원인과 과정을 규명하는데 관심을 가지게 되었다[1]. 자연 발생적인 치아우식증은 4가지의 특징적인 조직학적 특성을 갖는데, Sliverstone[2-4]은 투명층(translucent zone), 암층(dark zone), 건전 표층(surface zone) 그리고 병소 본체(body of lesion)라고 명명하였다. 자연적으로 발생된 치아우식증을 인공적으로 재현해 내기 위해서는 이러한 4

가지 층이 완벽하게 형성되어야 한다.

1960년대의 치아우식증에 대한 초기 연구에는 치아우식증을 재현하기 위해 발거된 치아를 정제된 사람의 타액을 사용하여 치아우식증을 재현해 내는 방법을 사용하였다[5,6]. 그러나 객관적인 연구를 위해서는 일정한 깊이와 형태를 가져야 하고, 재현이 용이하며, 시간 경과에 따른 병소 깊이가 일관성 있게 나타나야 한다. 이를 구현하기 위해서 다양한 방법들이 소개되었는데[7], Manson-Hing 등[8]은 liquid acid buffer 시스템, acidified gel 시스템, hydroxyethyl cellulose 시스템에서 유발된 인공 우

Corresponding author : Jongsoo Kim

Department of pediatric dentistry, School of Dentistry, Dankook university, 119 Dandaero, Dongnamgu, Cheonan, 31116, Korea

Tel: +82-41-550-0222 / Fax: +82-41-550-0118 / E-mail: jskim@dku.ed

Received April 4, 2019 / Revised May 1, 2019 / Accepted May 1, 2019

식과 구강내 환경에서 발생된 치아우식증을 비교한 결과 조직학적으로 매우 유사한 형태를 유지하였으며, 치아우식증의 재현이 용이하였다고 하였다.

Grossman 등[10,11]은 젖산을 이용한 인공 우식 유발이 매우 성공적이었다고 보고하였으며, Gallagher 등[12], Gilmour 등[13], Fontana 등[14]도 배양된 세균을 이용하여 인공 우식을 유발하고, 형태 조직학적으로 매우 우수한 결과를 얻었다고 보고하였다.

1987년 White[15]는 합성 polymer gel을 이용하여 효과적으로 건전 표층을 유지하면서, 균질의 조직학적 형태와 병소 깊이 조절이 가능한 인공우식 유발 방법을 발표하였다.

그러나 최근 White[15]의 방법에 사용되는 Carbopol® 907의 생산이 중단되면서, Carbopol® 907을 대체할 새로운 polymer gel이 요구되게 되었다. 이에 저자는 구입이 용이한 Carbopol® 2050을 사용하여 인공 탈회 용액을 만들고, Carbopol® 907에 의해 형성된 인공 우식의 양상을 편광 현미경 소견을 통해 병소 깊이의 변화를 관찰한 결과 다소의 지견을 얻었기에 보고하는 바이다.

II. 연구 대상 및 방법

1. 연구 대상

이 연구에 사용된 합성 polymer gel은 Carbopol® 907(Lubrizol, Noveon LOT No. EC265BF006, USA)과 Carbopol® 2050(Lubrizol, Noveon LOT No. CC5D5ED628, USA) 이었다.

교정 목적으로 발거된 사람의 소구치를 발거 즉시 0.1% thymol에 담가 수거하였다. 수거된 치아들은 흐르는 물로 혈액이 나오지 않을 때까지 세척한 다음 표면에 묻은 치주인대 및 기타 오염 물질들을 스케일러로 제거한 후 0.1% thymol 용액에 담가 실험 전까지 냉장 보관하였다.

2. 연구 방법

1) 법랑질 시편 제작

수거된 치아들을 꺼내어 LED광원을 사용하는 실체 현미경으로 표면을 관찰하여 치아우식증이 존재하거나 crack이 있는 경우는 제외시켰다.

내경 3.0 mm의 hollow core drill을 사용하여 법랑질 시편을 채취한 후 아크릴 봉에 내경 3.5 mm의 hole을 형성한 후 Dura Base(Reliance, USA)를 사용하여 형성한 와동 내에 법랑질이 상방으로 오도록 고정시켰다.

아크릴 봉을 수직으로 유지할 수 있도록 고안된 금속 홀더에 끼운 후 320, 600, 1200, 2400 grit의 실리콘 카바이드 페이퍼로 법랑질 시편의 표면을 활택 연마하였다. 준비된 법랑질 시편은 Table 1과 같이 각 군별로 무작위 배분하였다.

2) 탈회 용액 제조

50 cc 1.0 M 젖산(Sigma, USA)에 2차 증류수를 첨가하여 500 cc로 만들고, 여기에 50% 수산화나트륨 용액(Sigma, USA)을 첨가하여 pH를 5.0으로 조절하였다.

위 용액에 1.5 g calcium phosphate tribasic(Sigma, USA)을 첨가하는데, 20% 염산 용액으로 pH가 5.0을 유지한 상태로 30분간 교반기에서 용해시켰다.

용해가 끝난 용액은 여과지에 여과한 후 1% Carbopol® 907 stock solution 200 mL와 50 cc 1.0 M 젖산을 첨가하고, 증류수를 넣어 1000 cc 보다 조금 적은 양이 되도록 만들었다. 여기에 50% 수산화나트륨 용액을 첨가하여 pH 5.0을 맞추었다. 마지막으로 1000 cc가 되도록 증류수를 첨가하여 완성시켰다.

같은 방법으로 Carbopol® 907 stock solution을 대신해서 Carbopol® 2050 stock solution을 사용하여 똑같은 방법으로 탈회 용액을 만들었다.

3) 인공 우식 유발

노출된 법랑질 표면의 절반을 불소가 포함되지 않은 네일 바니쉬로 도포하여 정상 법랑질 표면을 보존하였다(Fig. 1). 37°C 항온기에서 한 용기 50 cc의 Carbopol® 907을 사용하여 만든 탈회 용액과 Carbopol® 2050을 사용하여 만든 탈회 용액을 각각

Table 1. Sample distribution of each group

Day	Carbopol® 907 Sample No.	Carbopol® 2050 Sample No.
1	4	4
2	4	4
3	4	4
4	4	4
5	4	4
6	4	4
7	4	4
9	4	4
11	4	4
15	4	4
18	4	4
20	4	4

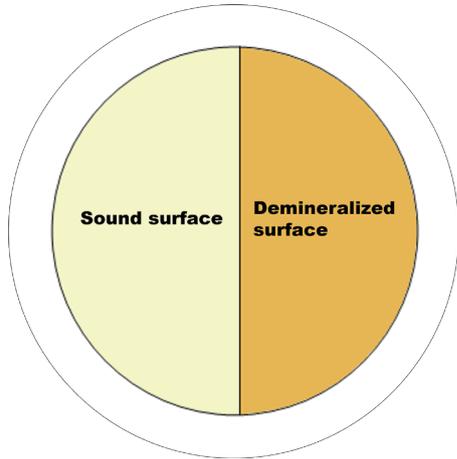


Fig. 1. Schematic draw of acrylic rod.

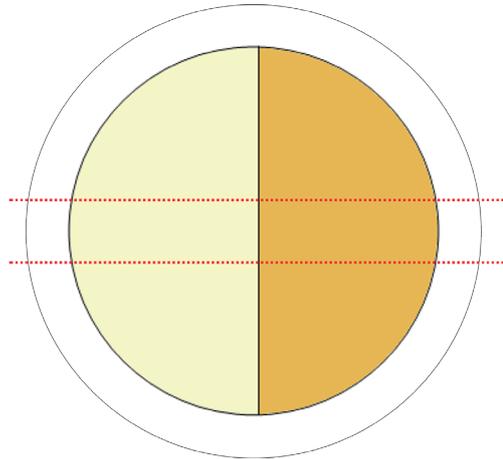


Fig. 2. Schematic draw of cross section of enamel by microtome.

넣었다. 준비된 용기는 탈회 기간과 탈회 용액 제조법에 따라 48 개를 준비하였고, 준비된 법랑질 시편을 각 용막마다 4개씩 넣었다. 1일부터 7일까지는 매일, 이후부터는 9, 11, 15, 18, 20일 후에 용기로부터 꺼내었다.

시편들은 하루에 1회씩 흔들어 주었고, 계획된 탈회 기간이 경과하면 꺼내어 생리 식염수로 충분히 세척한 다음 시편 절단을 용이하게 하기 위하여 아크릴 봉을 법랑질 시편만 포함되도록 자른 후 0.1% thymol 용액에 보관하였다.

고속 microtome으로 정상 및 탈회 법랑질이 포함되도록 Fig. 2에 나타난 점선 방향으로 시편을 절단한 후 절단된 시편을 슬라이드 글라스에 고정하였다.

시편이 부착된 슬라이드 글라스를 특별히 고안된 기구에 끼워 주수하에서 320, 600, 1200, 2400 grit의 실리콘 카바이드 페이퍼 순으로 활택 연마하였다.

4) 편광 현미경 관찰

준비된 법랑질 시편을 증류수 점적 하에서 디지털 편광현미경 (Olympus CX31, USA)으로 25 배율 하에서 관찰하고 최적의 영상을 컴퓨터에 JPEG 파일 형식으로 저장하였다. 촬영된 이미지는 영상 분석 프로그램(Able Image Analyser, USA)에서 조직학적 형상을 관찰하고 병소 깊이를 측정하였다.

병소의 깊이는 5곳을 임의 선정하여 측정한 후 최대값과 최소값을 제외한 나머지 3개의 값의 평균을 각 시편의 대표값으로 하였다.

5) 통계 분석

각각의 탈회 기간에 대한 Carbopol® 907과 Carbopol® 2050을 사용한 탈회 용액에 의한 병소 깊이를 비교하기 위하여 Mann-

Whitney 검정을 시행하였고, 탈회 기간에 따른 병소 깊이의 변화 양상을 비교 평가하기 위하여 회귀분석을 시행하였다.

III. 연구 성적

Carbopol® 907에 의해 형성된 인공 우식의 편광현미경적 소견을 Fig. 3에서 Fig. 5까지 나타내었다. 3일 군과 4일 군에서 화살표가 표시하는 바와 같이 미약하게 병소가 형성되는 것이 보였다. 7일 군과 9일 군에선 보다 뚜렷한 병소 양상을 보여 주었고, 18일 군에 이르러서 매우 깊은 우식 병소를 보여 주었으며, 초기우식증의 특징적인 소견인 건전 표층은 잘 유지되고 있는 것을 관찰할 수 있었다.

Carbopol® 2050의 편광 현미경 소견을 Fig. 6에서 Fig. 8까지 나타내었다. Carbopol® 907과 마찬가지로 Carbopol® 2050에서도 시간이 지남에 따라 병소 깊이가 증가하였다. Carbopol® 907에 비해 병소 깊이 증가 속도가 좀 더 빠르게 나타났다. 건전 표층이 잘 유지되고 있으며, 병소 하방이 매우 균일하게 형성되었다.

Carbopol® 907과 Carbopol® 2050의 탈회 기간에 따른 병소 깊이의 변화를 Table 2에 나타내었다.

탈회 1일 군의 병소 깊이는 Carbopol® 907은 $6.8 \pm 3.5 \mu\text{m}$ 이었고, Carbopol® 2050은 $13.1 \pm 4.2 \mu\text{m}$ 이었다. Mann-Whitney 분석 결과 두 군간의 유의차가 있었다.

탈회 2일 군의 병소 깊이는 Carbopol® 907은 $12.3 \pm 1.7 \mu\text{m}$ 이었고, Carbopol® 2050은 $29.5 \pm 5.3 \mu\text{m}$ 이었으며, 통계학적으로 유의차가 있었다.

탈회 3일 군의 병소 깊이는 Carbopol® 907은 $30.6 \pm 4.2 \mu\text{m}$ 이었고, Carbopol® 2050은 $42.4 \pm 5.4 \mu\text{m}$ 이었으며, 1일 군이나 2일 군과는 달리 통계학적으로 유의차를 보이지 않았다.

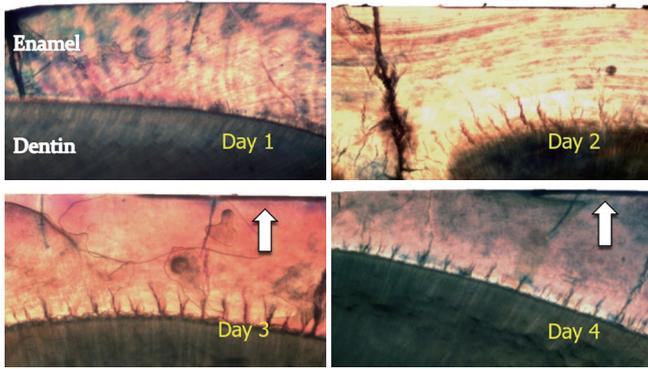


Fig. 3. Polarized image of Carbopol® 907 from 1st day to 4th day.

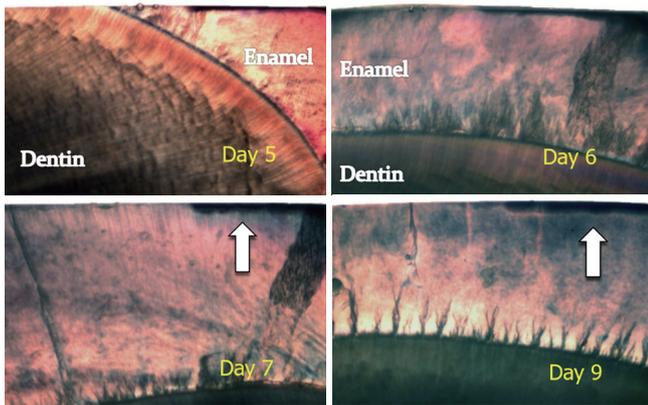


Fig. 4. Polarized image of Carbopol® 907 from 5th day to 9th day.

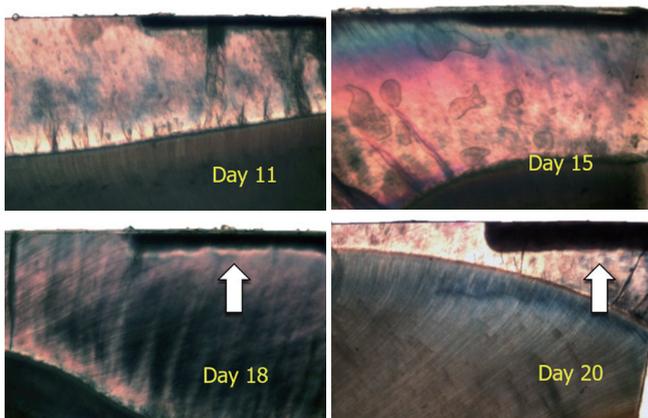


Fig. 5. Polarized image of Carbopol® 907 from 11th day to 20th day.

탈회 4일 군의 병소 깊이는 Carbopol® 907은 $37.6 \pm 3.9 \mu\text{m}$ 이었고, Carbopol® 2050은 $49.4 \pm 6.1 \mu\text{m}$ 이었으며, 통계학적으로 유의한 차이를 보였다.

탈회 5일 군에서는 Carbopol® 907은 $43.9 \pm 6.1 \mu\text{m}$ 이었고,

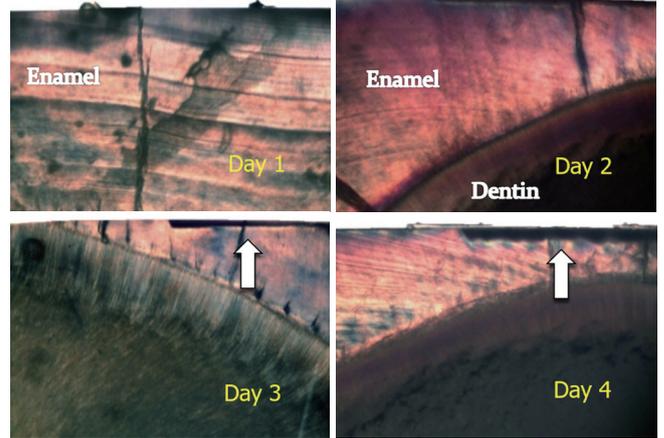


Fig. 6. Polarized image of Carbopol® 2050 from 1st day to 4th day.

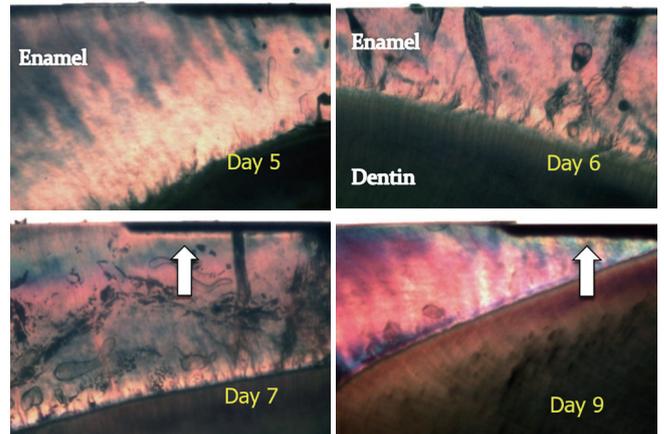


Fig. 7. Polarized image of Carbopol® 2050 from 5th day to 9th day.

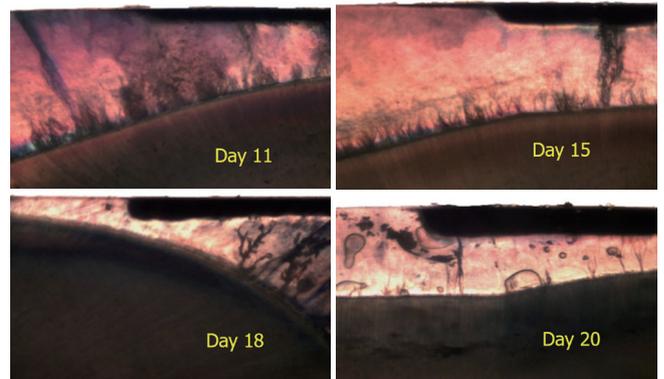


Fig. 8. Polarized image of Carbopol® 2050 from 11th day to 20th day.

Carbopol® 2050은 $67.2 \pm 4.1 \mu\text{m}$ 이었으며, 탈회 6일 군에서는 Carbopol® 907은 $54.3 \pm 9.7 \mu\text{m}$ 이었고, Carbopol® 2050은 $77.3 \pm 7.1 \mu\text{m}$ 로 나타났다.

탈회 7일 군에서는 Carbopol® 907은 $43.9 \pm 6.1 \mu\text{m}$ 이었고,

Carbopol® 2050은 64.6 ± 7.1 μm이었으며, 탈회 9일 군에서는 Carbopol® 907은 54.3 ± 9.7 μm이었고, Carbopol® 2050은 78.9 ± 6.0 μm로 나타났다.

탈회 11일 군에서는 Carbopol® 907은 85 ± 6.2 μm이었고, Carbopol® 2050은 64.6 ± 7.1 μm이었으며, 탈회 15일 군에서는 Carbopol® 907은 54.3 ± 9.7 μm이었고, Carbopol® 2050은 96.8 ± 4.8 μm로 나타났다.

탈회 18일 군에서는 Carbopol® 907은 138.5 ± 15.4 μm이었고, Carbopol® 2050은 186.4 ± 9.8 μm이었으며, 탈회 20일 군에서는 Carbopol® 907은 183.1 ± 6.6 μm이었고, Carbopol® 2050은 206.5 ± 5.4 μm로 나타났다.

두 탈회 용액의 탈회 기간에 대한 병소 깊이의 Mann-Whitney 분석 결과를 Table 2에 나타내었다. 분석 결과 3일 군과 9일 군을 제외한 모든 군에서 통계학적 유의차를 보였다.

Table 2. Lesion depth of each experimental period

Day	Carbopol® 907	Carbopol® 2050	Mann-Whitney test
	Mean ± SD	Mean ± SD	p value
1	6.8 ± 3.5	13.1 ± 4.2	0.026*
2	12.3 ± 1.7	29.5 ± 5.3	0.029*
3	30.6 ± 4.2	42.4 ± 5.4	1.000
4	37.6 ± 3.9	49.4 ± 6.1	0.001*
5	43.9 ± 6.1	67.2 ± 4.1	0.000*
6	54.3 ± 9.7	77.3 ± 7.1	0.000*
7	64.6 ± 7.1	78.9 ± 6.0	0.002*
9	80.5 ± 6.3	84.4 ± 9.6	0.209
11	85.0 ± 6.2	96.8 ± 4.8	0.004*
15	111.2 ± 7.7	150.9 ± 18.2	0.001*
18	138.5 ± 15.4	186.4 ± 9.8	0.001*
20	183.1 ± 6.6	206.5 ± 5.4	0.000*

병소 깊이의 변화를 Fig. 9에 선 그래프로 나타내었다. Carbopol® 2050의 병소 깊이가 전 실험 기간에 걸쳐 Carbopol® 907보다 다소 높게 나타났다.

Fig. 10은 탈회 기간에 대한 Carbopol® 907의 병소 깊이에 대한 산포도를 나타내었고, 회귀 분석 결과를 중첩시켰다. 탈회 기간에 따라 병소 깊이가 비례 관계를 가지면서 증가하는 것을 알 수 있었다.

Fig. 11은 탈회 기간에 대한 Carbopol® 2050의 병소 깊이에 대한 산포도를 나타내었고, 회귀 분석 결과를 중첩시켰다. 탈회 기간에 따라 병소 깊이가 비례 관계를 가지면서 증가하는 것을 알 수 있었다.

Fig. 12는 두 탈회 용액의 병소 깊이 변화 양상을 비교 평가하기 위하여 각각의 결과를 함께 나타낸 산포도와 회귀결과 분석 결과이다. Carbopol® 2050의 회귀식이 $Y = 9.8X + 8.0$ 이고,

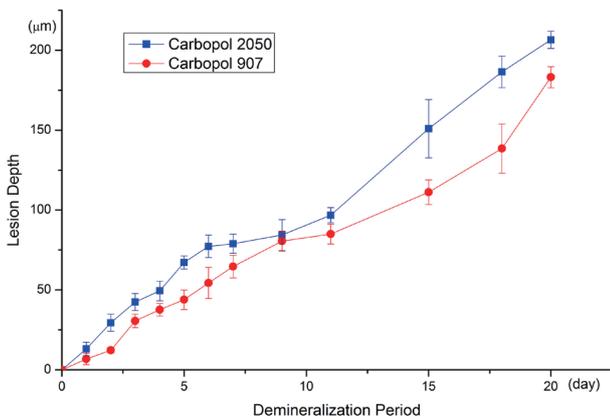


Fig. 9. Lesion depth changes of each group by experimental period.

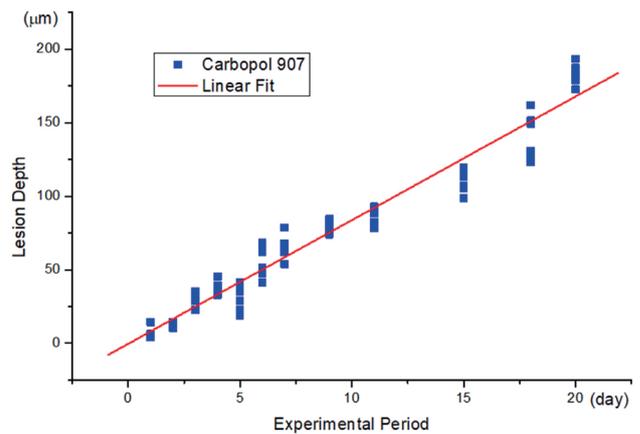


Fig. 10. Scatter gram and regression analysis of Carbopol® 907 by experimental period.

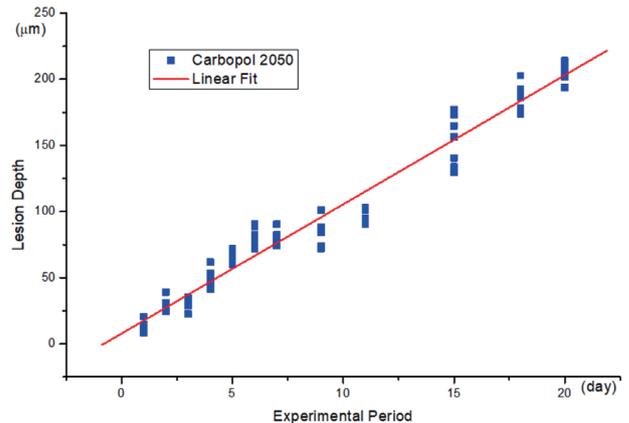


Fig. 11. Scatter gram and regression analysis of Carbopol® 2050 by experimental period.

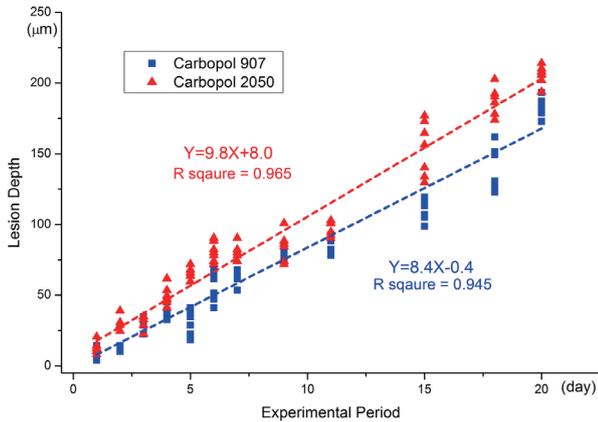


Fig. 12. Scatter gram and regression analysis of Carbopol® 907 and Carbopol® 2050 by experimental period.

Carbopol® 907의 회귀식이 $Y = 8.4X - 0.4$ 로 나타나 Carbopol® 2050의 병소 깊이 증가 속도가 Carbopol® 907보다 크다는 것을 알 수 있다. 또한 Carbopol® 2050의 R square 값이 0.965로 나타났고, Carbopol® 907의 R square 값이 0.945로 나타나 두 탈회 용액 모두 탈회 기간에 대한 병소 깊이의 변화가 회귀식을 잘 따르고 있음을 알 수 있었다.

IV. 총괄 및 고찰

Miller는 구강내 세균이 탄수화물과 음식 찌꺼기를 대사시켜 젖산을 만들고, 이 젖산에 의해 법랑질이 탈회된다는 치아우식증 발생 과정을 발표하였다[1]. 그는 우식의 발생은 저류가 쉬운 형태학적 특성을 갖는 곳에서 쉽게 발생된다고 지적하였다. 이후 치아우식증과 관계된 국소적 원인들의 규명과 연관된 다양한 세균들의 역할들이 여러 학자들의 연구에 의해 입증되었다.

구강내에서 발생하는 자연 발생적인 치아우식증에 대해 Sliverstone[2-4]은 연마 표본을 만들고 이를 편광현미경으로 관찰한 결과 특이한 층이 존재함을 확인하였다. 이러한 특별한 층들은 조직학적 특성에 따라 4개의 특징적인 층으로 구별되는데, 1966년에 편광현미경하에서 빛이 그대로 투과되는 층을 발견하고 이를 투명층(translucent zone)이라 명명하였으며, 1967년에는 빛이 투과 못하는 암층(dark zone)을, 1968년에는 병소 본체(body of lesion) 상부에 존재하는 건전 표층(surface zone)의 존재에 대해서도 발표하였다.

초기 치아우식증 연구에 있어 자연 발생의 치아우식증과 똑같은 조직학적 특성을 갖는 인공 우식 유발법은 이러한 4개의 층

을 가져야 하며, 성공 여부도 이러한 4개의 층이 완벽하게 존재하느냐에 달려있다.

인공 우식을 만들기 위한 초기의 연구들을 살펴보면, 발거된 치아를 정제된 사람의 타액에 넣고 일정 시간을 기다려 치아우식증을 재현해 내는 방법을 사용하였다[5,6]. 그러나 이러한 방법은 조직학적 특성이 개개 치아의 변이에 따라 매우 다양하게 나타나며, 우식 병소의 깊이를 조절하기에는 불가능하였으며, 초기의 우식 유발 세균과 우식 발생의 원인 연구에 국한적으로 사용되었다. 객관적인 연구를 위해서는 우식 병소의 일정한 깊이와 형태를 갖을 수 있어야 하며, 우식 유발의 재현성이 용이하고, 시간에 따른 병소 깊이가 일관성 있게 나타나야 한다. 이를 위해서 다양한 방법들이 소개되었는데[7], Manson-Hing 등[8]은 liquid acid buffer 시스템, acidified gel 시스템 그리고 구강내 환경에서 치아우식증을 유발하여 hydroxylethyl cellulose 시스템과 비교한 결과 유발된 우식증이 조직학적으로 일정한 형태를 유지하였으며, 재현율이 용이하였다고 하였다. 그러나 이러한 방법들도 우식 병소의 정교한 병소 깊이 조절이나 형태 재현에는 한계성이 있었다.

Grossman 등[10,11]은 젖산을 이용한 인공 우식 유발이 매우 성공적이었다고 보고하였으며, 이외에도 배양된 세균을 이용한 인공 우식 유발에서도 성공적인 결과를 얻었음을 보고하였다[12-14].

Carbopol은 화장품 산업에서 크림과 로션을 만들 때 gelling agent 또는 점증제(thickener)로 사용된다. Carbopol은 carboxy-vinylpolymer 레진으로 흡수성이 강하고 인체에 무해한 특성을 가진 흰색 가루이다.

분자량은 72.06266 g/M이고, 화학식은 $C_3H_4O_2$ 이다. Acrylic acid, 2-propenoic acid, vinylformic acid, propenoic acid, acroleic acid 등 매우 다양한 명칭으로 불린다.

1987년 White[15]은 synthetic polymer gel을 이용하여 효과적으로 건전 표층을 유지하면서, 인공 우식 재현성이 우수하고 균질의 조직학적 형태와 병소 깊이 조절이 가능한 인공우식 유발 방법을 발표하였다.

인공 우식 유발법은 법랑질의 탈회 및 재광화 효과에 입증하기 위해서 가장 유용하게 사용되었다. Varpio 등[16]과 Dionysopoulos 등[17,18]은 acid gel 시스템을 이용하여 인공 우식을 유발시키고 불소가 함유된 와동 충전제에 의한 항우식 효과를 입증하였으며, Jung 등[19]은 와동에 충전된 컴포머에서 유리되는 불소가 인접 법랑질의 항우식 효과를 확인하기 위하여 hydroxylethyl cellulose 시스템을 사용하여 인공 우식을 유발시켰다. 이외에도 White 등[20]과 Arends 등[21]도 법랑질에 인공 우식을 유발시켜 탈회와 재광화 그 효과를 입증하였다.

자연치의 치아우식증을 재현하기 위해서는 표층의 건전 법랑질을 유지하면서 심부의 무기질이 빠져나가는 과정이 이루어져야 한다. Boyle 등[22]은 인공적으로 표층 하에서의 무기질을 탈회시킨 인공 우식을 성공적으로 수행하였다고 보고하였다.

이 연구에서도 건전 표층의 유지를 위해 Carbopol이 사용되었으며, 이 물질은 법랑질의 표면에 쉽게 달라붙어 젖산의 공격을 막아 주는 역할을 한다. Carbopol은 피부와 접촉력을 증가시켜 주는 성질이 있어 인공 우식 유발법에서 법랑질 표층의 보호 역할을 훌륭히 수행해 낼 수 있었다. 또한 함께 사용되는 carboxy apatite도 구강내 환경에서와 마찬가지로 탈회와 재광화의 과정을 반복적으로 일어날 수 있도록 하는데 그 사용 목적이 있다.

인공 우식 유발 과정 중 표층 하부의 무기질이 탈회 과정이 어떻게 일어나는지가 중요한데, 1985년 Featherstone 등[23]은 젖산의 공격으로 인해 법랑질 표층에 소공이 형성되고 이것이 심층부로 진행되어 내려가게 되는데, 이러한 표층의 소공들이 surface porosity를 이루고 이것이 임상적으로 white spot으로 보인다고 설명하였다. 심층부까지 형성된 channel을 따라 표층하의 법랑질 무기질들이 외부로 빠져 나오게 되지만, 표층에서는 탈회와 동시에 재광화가 일어남으로써 우식 와동 형성이 지연되게 된다. 그러나 과정이 장기간 지속되게 되면 channel이 점점 더 넓어지고 하부 무기질의 탈회가 더욱 가속화되어 결국 표층의 물리적인 파절로 인해 우식 와동을 형성하게 된다[24]. 이러한 과정은 Ingram 등[25]과 Featherstone[26] 등 여러 학자들의 관심 속에서 초기 우식증의 조직학적 분석을 통한 연구가 되었는데, 치아우식증이 자연 치아와의 유사성을 검증하기 위하여 미세 경도와 TMR 분석을 통해서 매우 유사함을 확인한 바 있다[27].

White[15]의 인공 우식 용액 제조법을 살펴보면, 먼저 50 cc 1.0 M 젖산에 2차 증류수를 첨가하여 500 cc로 만들고, 여기에 50% 수산화나트륨 용액을 첨가하여 pH를 5.0으로 조절하였다. 이때 중요한 것은 급격한 pH의 변화가 없도록 소량씩 천천히 첨가하여 pH 5.0에 정확히 맞추도록 해야 하는 것이다. 만약 과량의 수산화나트륨이 첨가되어 순간적으로 pH가 5.0을 넘어가게 되면 제조를 새로 시작하여야 한다. 이러한 실수를 줄이기 위해서는 저 농도의 수산화나트륨을 미리 준비하여 사용하는 것이 추천된다.

위 용액에 1.5 g calcium phosphate tribasic(Sigma, USA)을 첨가하는데, 20% 염산 용액과 함께 첨가하여 pH가 5.0을 유지하면서 30분간 교반기에서 용해를 시켜야 한다. 이 과정이 매우 중요한데, pH를 정확히 유지하면서 calcium phosphate tribasic을 충분히 용해시켜야 하기 때문이다. 반드시 pH 4.8 - 5.2 사이에서 calcium phosphate tribasic을 완전히 용해시켜야 한다. 처음

10분이 가장 중요한데, 소량씩, 번갈아 첨가하면서 용해시켜야 실수를 줄일 수 있다. 용해가 충분히 잘 일어났는지 여부는 필터링을 통해서 알 수 있다.

필터를 증류수를 이용하여 깔때기에 정확히 밀착시켜 용액이 필터를 우회해서 빠져 나가지 않도록 해야 한다. 필터링한 결과 용액이 뿌옇게 나오면 calcium phosphate tribasic의 용해 과정이 충분히 일어나지 않은 것이므로 처음부터 제조를 다시 시작하여야 한다.

필터링한 용액에 1% Carbopol® stock solution 200 mL와 50 cc 1.0 M 젖산을 첨가하고, 나머지는 증류수를 넣어 1000 cc보다 조금 적은 양이 되도록 만든다. 1% Carbopol® 용액은 99 cc 증류수에 Carbopol® 1.0 g을 첨가한 후 교반하여 제조하는데, 용해되는 시간이 오래 걸리기 때문에 반드시 사용하기 전날 제조해 놓아야 한다. 미리 제조해 놓은 Carbopol® stock solution은 쉽게 곰팡이가 발생되기 때문에 쓰고 남은 용액을 장기간 보관하는 것은 추천되지 않으며 가능한 사용하기 전날 제조하는 것이 좋다. 여기에 50% 수산화나트륨 용액을 첨가하여 pH 5.0으로 조절하고, 마지막으로 1000 cc가 되도록 증류수를 첨가하여 1 L의 인공 우식 용액을 완성한다. 또 한가지 중요한 사항은 젖산을 원액 그대로 사용하는 것이 아니라 반드시 사용 전날 90도에서 8시간 증탕한 것을 사용하여야 한다.

이 연구에서 Carbopol® 907과 Carbopol® 2050 모두 동일한 과정을 거쳐 제조하였으나, Carbopol® 2050의 용해 속도가 Carbopol® 907보다 다소 느리게 나타났다.

Carbopol® 907에 의해 형성된 인공 우식의 편광현미경적 소견을 나타내었다. 3일 군과 4일 군에서 화살표가 표시하는 바와 같이 미약하게 병소가 형성되는 것이 보였다. 7일 군과 9일 군에선 보다 뚜렷한 병소 양상을 보여 주었다. 18일 군에 이르러서 매우 깊은 우식 병소를 보여 주었으며, 초기우식증의 특징적인 소견인 건전 표층은 잘 유지되고 있는 것을 관찰할 수 있었다.

Carbopol® 907을 이용한 인공 우식 용액으로 법랑질에 인공 우식을 유발시키고 TMR과 QLF를 이용하여 우식 병소의 변화에 대한 Lee 등[28]의 연구 결과와 비교해 보면, Carbopol® 907과 마찬가지로 Carbopol® 2050에서도 실험 기간 경과에 따라 병소 깊이가 증가함을 알 수 있었다. Lee 등[28]의 결과에서 1일 군에서 영구치 법랑질 우식 병소의 깊이가 $21.8 \pm 1.3 \mu\text{m}$ 이었고, 2일에서는 $29.0 \pm 3.7 \mu\text{m}$ 이었다. 4일 군에서는 $38.9 \pm 10.4 \mu\text{m}$ 이었고, 8일 군에서는 $91.6 \pm 6.9 \mu\text{m}$ 이었다. 이는 이 연구 결과와 비교해 볼 때, Carbopol® 907이 $6.8 \pm 3.5 \mu\text{m}$ 이었고, Carbopol® 2050이 $13.1 \pm 4.2 \mu\text{m}$ 인 것과 비교해 볼 때 이 연구가 다소 적은 병소 깊이를 보인 것으로 나타났다. 그러나, 2일 군에서는 Carbopol® 907은 $12.3 \pm 1.7 \mu\text{m}$ 이었고, Carbopol® 2050이 29.5

$\pm 5.3 \mu\text{m}$ 로 나타나 병소 깊이의 차이가 많이 감소하였다. 4일 군에서 Carbopol® 907은 $37.6 \pm 3.9 \mu\text{m}$ 이었고, Carbopol® 2050은 $49.4 \pm 6.1 \mu\text{m}$ 로 나타나 Lee 등[28]의 연구와 매우 유사한 값을 보였다.

이 연구에서는 8일 군의 측정값이 없어 Lee 등[28]의 연구와 직접적인 비교는 할 수 없지만, 7일 군 Carbopol® 907이 $43.9 \pm 6.1 \mu\text{m}$ 였고, Carbopol® 2050이 $64.6 \pm 7.1 \mu\text{m}$ 이었다. 9일 군에서는 Carbopol® 907은 $54.3 \pm 9.7 \mu\text{m}$ 이었고, Carbopol® 2050은 $78.9 \pm 6.0 \mu\text{m}$ 로 나타나 Lee 등[28]의 연구보다는 다소 적은 값을 보였다. 그러나 전체적인 변화 양상을 비교해 보면 표준 편차 범위 내에 있으므로, 이 연구의 결과가 Lee 등[28]의 결과와 매우 유사하다고 판단되었다.

Fig. 12에 나타난 회귀결과 분석 결과를 살펴보면, Carbopol® 2050의 회귀식 $Y = 9.8X + 8.0$ 에 대한 R square 값이 0.965로 나타나 Carbopol® 2050에 의해서 형성된 병소 깊이는 회귀 결과식에 대해 측정값들이 96.5% 수준으로 회귀식을 잘 따르고 있다고 설명할 수 있다. 또한 Carbopol® 907의 회귀식이 $Y = 8.4X - 0.4$ 로 나타났고, R square 값이 0.945로 나타나 Carbopol® 907 역시 94.5% 수준으로 측정값이 회귀식을 잘 따르는 것으로 나타났다.

이상의 결과로 종합해 보면, Carbopol® 2050을 이용한 인공 탈회 용액은 조직학적으로 자연 발생의 치아우식증을 정확하게 재현해 낼 수 있을 뿐만 아니라, 탈회 기간에 대한 병소 깊이 변화도 예측 가능하여 매우 정교한 연구 기간의 조절이 가능할 것으로 판단되었다.

그러나 이 연구에서는 법랑질 표면에 대한 미세 경도 측정을 시행하지 않아 초기 인공 우식 병소의 미세 경도 변화에 대한 Carbopol® 2050이 유효한지에 대해서는 결론을 내릴 수 없는 아쉬움을 남겼다. 그러나 탈회 및 재광화 연구에는 Carbopol® 2050을 이용한 인공 탈회 용액 사용이 유효할 것으로 사료되었다.

V. 결 론

인공우식 유발 용액 제조 방법 중의 하나인 White의 방법에 따라 Carbopol® 907을 사용하여 제조하고, 같은 방법으로 Carbopol® 2050을 사용하여 인공 탈회 용액을 제조하였다.

탈회 용액에 법랑질 시편을 침적시키고 1일부터 7일까지는 매일, 이후부터는 9, 11, 15, 18, 20일 후에 탈회 용액으로부터 시편을 꺼내어 편광현미경으로 관찰하여 병소 깊이의 변화와 우식 양상을 평가하였다.

편광 현미경 소견을 관찰한 결과, Carbopol® 907과 Carbopol®

2050을 사용한 탈회 용액으로 유발된 인공 우식은 자연 발생의 치아우식증과 매우 유사한 소견을 보였다. 인공 우식을 유발시킨 영구치 법랑질 병소의 탈회 기간 경과에 따른 병소 깊이를 회귀 분석한 결과, Carbopol® 907을 사용한 경우는 회귀식이 $Y = 8.4X - 0.4$ 이었고, Carbopol® 2050을 사용한 경우는 회귀식이 $Y = 9.8X + 8.0$ 이었다. Carbopol® 907을 사용한 경우에 대한 회귀식의 R square 값은 0.945이었고, Carbopol® 2050을 사용한 경우는 R square 값이 0.965로 나타났다.

초기 법랑질 우식 병소 연구에 있어 인공 우식 유발 용액 제조 시에 Carbopol® 2050을 사용한 경우가 Carbopol® 907을 사용한 경우보다 병소 깊이 증가가 더 빠르게 나타났으며, 회귀 분석 결과에서 R square 값이 0.965와 0.945로 나타나 탈회 기간과 병소 깊이가 매우 높은 상관관계를 가지고 있으며, 병소 깊이의 조절이 매우 용이하다는 것을 알 수 있었다.

References

1. Enright JJ, Friesell HE, Trescher MO : Studies of the causes and nature of dental caries. *J Dent Res*, 12:759-851, 1932.
2. Silverstone LM : The primary translucent zone of enamel caries and of artificial caries-like lesions. *Br Dent J*, 120:461-471, 1966.
3. Silverstone LM : Observations on the dark zone in early enamel caries and artificial caries-like lesions. *Caries Res*, 1:260-274, 1967.
4. Silverstone LM : The surface zone in caries and in caries-like lesions produced in vitro. *Br Dent J*, 125:145-157, 1968.
5. Besic FC : Artificial dental caries; preliminary report. *J Dent Res*, 30:708-711, 1951.
6. Besic FC : Caries-like enamel changes by chemical means. *J Dent Res*, 32:830-839, 1953.
7. Theuns HM, van Dijk JW, Driessens FC, Groeneveld A : Effect of time and degree of saturation of buffer solutions on artificial carious lesion formation in human tooth enamel. *Caries Res*, 17:503-512, 1983.
8. Manson-Hing LR, Keller SE, Feagin FF, Koulourides T : Microradiographic comparison of artificial caries systems. *J Dent Res*, 51:923-928, 1972.
9. Groeneveld A, Theuns HM, Kalter PG : Microradiography of developing artificial dental caries-like lesions in man. *Arch Oral Biol*, 23:75-83, 1978.
10. Grossman ES, Matejka JM : Amalgam restoration and in vitro caries formation. *J Prosthet Dent*, 73:199-209, 1995.

11. Grossman ES, Matejka JM : Histological features of artificial secondary caries adjacent to amalgam restorations. *J Oral Rehabil*, 26:737-744, 1999.
12. Gallagher IH, Pearce EI, Cutress TW : Artificial caries produced by different oral bacterial cultures incubated with bovine dental enamel. *Arch Oral Biol*, 28:317-325, 1983.
13. Gilmour AS, Edmunds DH, Newcombe RG, Clark MF : An in vitro study into the effect of a bacterial artificial caries system on the enamel adjacent to composite and amalgam restorations. *Caries Res*, 27:169-175, 1993.
14. Fontana M, Dunipace AJ, Stookey GK, *et al.* : An in vitro microbial model for studying secondary caries formation. *Caries Res*, 30:112-118, 1996.
15. White DJ : Use of synthetic polymer gels for artificial carious lesion preparation. *Caries Res*, 21:228-242, 1987.
16. Varpio M, Norén JG : Artificial caries in primary and permanent teeth adjacent to composite resin and glass ionomer cement restorations. *Pediatr Dent*, 16:107-109, 1994.
17. Dionysopoulos P, Kotsanos N, Papadogiannis Y, Konstantinidis A : Artificial caries formation around fluoride-releasing restorations in roots. *J Oral Rehabil*, 25:814-820, 1998.
18. Dionysopoulos P, Kotsanos N, Papadogiannis Y, Konstantinidis A : Artificial secondary caries around two new F-containing restoratives. *Oper Dent*, 23:81-86, 1998.
19. Jung HM, Kim YK, Kim JS, Kwon SW : Comparative study on remineralizing effect of compomers. *J Korean Acad Pediatr Dent*, 29:498-508, 2002.
20. White DJ, Faller RV, Bowman WD : Demineralization and remineralization evaluation techniques-added considerations. *J Dent Res*, 71 Spec No:929-933, 1992.
21. Arends J, ten Bosch JJ : Demineralization and remineralization evaluation techniques. *J Dent Res*, 71 Spec No:924-928, 1992.
22. Boyle EL, Higham SM, Edgar WM : The production of subsurface artificial caries lesions on third molar teeth. *Caries Res*, 32:154-158, 1998.
23. Featherstone JD, Holmen L, Shariati M, *et al.* : Chemical and histological changes during development of artificial caries. *Caries Res*, 19:1-10, 1985.
24. Holmen L, Thylstrup A, Shariati M, *et al.* : A scanning electron microscopic study of surface changes during development of artificial caries. *Caries Res*, 19:11-21, 1985.
25. Ingram GS, Silverstone LM : A chemical and histological study of artificial caries in human dental enamel in vitro. *Caries Res*, 15:393-398, 1981.
26. Featherstone JD : The continuum of dental caries-evidence for a dynamic disease process. *J Dent Res*, 83 Spec No C:C39-42, 2004.
27. Featherstone JD, ten Cate JM, Shariati M, Arends J : Comparison of artificial caries-like lesions by quantitative micro-radiography and microhardness profiles. *Caries Res*, 17:385-391, 1983.
28. Lee CK, Yu SH, Kim JS : Comparative study of the rate of dental enamel demineralization using a QLF. *J Korean Acad Pediatr Dent*, 31:506-515, 2004.

국문초록

합성 폴리머 겔의 법랑질 탈회 속도 비교

이준행 · 신지선 · 김종수

단국대학교 치과대학 소아치과학교실

인공우식 유발 용액 제조 방법 중의 하나인 White의 방법에 사용되는 Carbopol® 907의 생산이 최근 중단되면서, 그동안 사용되어 왔던 Carbopol® 907을 대체할 새로운 법랑질 보호제가 요구되게 되었다.

기존 White의 방법에 따라 Carbopol® 907을 사용하여 제조하고, 같은 방법으로 Carbopol® 2050을 사용하여 인공 탈회 용액을 제조한 후, 1일부터 20일까지 법랑질 표면에 인공우식을 유발시키고 편광현미경으로 관찰하여 병소 깊이의 변화와 우식 양상을 평가하였다.

편광 현미경 소견을 관찰한 결과, Carbopol® 907과 Carbopol® 2050을 사용한 탈회 용액으로 유발된 인공 우식은 자연 발생의 치아 우식증과 매우 유사한 소견을 보였다.

Carbopol® 907과 Carbopol® 2050을 사용한 탈회 용액으로 인공 우식을 유발한 영구치 법랑질 병소의 탈회 기간 경과에 따른 병소 깊이를 회귀 분석한 결과, Carbopol® 907을 사용한 경우는 회귀식이 $Y = 8.4X - 0.4$ 이었고, Carbopol® 2050을 사용한 경우는 회귀식이 $Y = 9.8X + 8.0$ 이었다.

Carbopol® 907을 사용한 경우에 대한 회귀식의 R square 값은 0.945이었고, Carbopol® 2050을 사용한 경우는 R square 값이 0.965로 나타났다.

초기 법랑질 우식 병소 연구에 있어 인공 우식 유발 용액 제조시에 Carbopol® 2050을 사용한 경우가 Carbopol® 907을 사용한 경우보다 병소 깊이 증가가 더 빠르게 나타났으며, 회귀 분석 결과에서 R square 값이 0.965와 0.945로 나타나 탈회 기간과 병소 깊이가 매우 높은 상관관계를 가지고 있으며, 병소 깊이의 조절이 매우 용이하다고 사료되었다.