

## 폴리아크릴산의 농도에 따른 인공 초기우식병소의 변화 양상

김보라, 김희은, 권호근, 김백일

연세대학교 치과대학 예방치과학교실, 구강악안면경조직재생연구센터, 두뇌한국21 연세치의과학사업단

### Effect of polyacrylic acid concentration on producing artificial carious enamel lesions

Bo-Ra Kim, Hee-Eun Kim, Ho-Keun Kwon, Baek-Il Kim

Department of Preventive Dentistry & Public Oral Health, College of Dentistry, Yonsei University, Research Center for Orofacial Hard Tissue Regeneration, Brain Korea 21 Project

**Objectives.** The aim of this *in vitro* study was to examine the effect of polyacrylic acid (Carbopol 2050) concentration on producing artificial carious lesions.

**Methods.** Sixty bovine enamel specimens were selected by the initial surface microhardness (SMH) by measuring the Vickers microhardness number. The samples were immersed in five demineralizing gels with 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 and 1.0% Carbopol 2050 for 96 hours to produce artificial carious enamel lesions. After demineralization, the SMH was measured again to calculate the percentage of SMH reduction ( $\Delta$ SMH%). The cross-sectional microhardness (CSMH) was assessed to determine total mineral loss and total lesion depth. The Polarized light microscopy analysis was conducted to evaluate the lesion depth and the mineral distribution of upper part of lesions.

**Results.** Based on the concentration of Carbopol 2050, the  $\Delta$ SMH% did not decrease. CSMH test revealed that total lesion depths ranged from 84 to 96  $\mu$ m. The total mineral loss was significantly greater in the 0.8% group than in the 0.2% group ( $p < 0.05$ ). According to PLM analysis, lesion depth to the dark layer was deeper in the higher concentration groups and mineral distribution showed a distinct pattern in five groups. The surface zone was observed in the lesions but no clear feature was observed in the higher concentration groups.

**Conclusions.** The concentration of Carbopol 2050 affected mineral distribution and mineral loss, but did not affect surface protection and the total lesion depth of lesions.

**Key Words:** carbopol, carious lesions, polyacrylic acid, surface-protective agents

**색 인:** 인공 초기우식병소, 카보폴 2050, 폴리아크릴산(polyacrylic acid), 표면 보호제

투고일자: 2010. 8. 16, 심사일자: 2011. 3. 10, 게재확정일자: 2011. 3. 10

책임저자: 김백일, 연세대학교 치과대학 예방치과학교실, (120-752) 서울시 서대문구 성산로 250

Tel: 02-2228-3070, Fax: 02-392-2926, E-mail: drkbi@yuhs.ac

\*본 연구는 2010년도 정부(교육과학기술부)의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 기초연구사업임(R13-2003-013-05002-0).

## 서론

초기 치아우식병소는 바이오필름이 국소적으로 덮여 있는 치아면에서 치아우식증의 초기 임상적 증상으로 관찰되며 흔히 백색병소(white spot)라고 부른다. 이 병소는 우식와동이 형성되지 않은 상태로 재광화 과정을 통하여 치아우식증의 진행을 불활성화 시키고 치아의 구조와 기능, 심미적인 요소를 회복시킬 수 있다<sup>1,2)</sup>. 따라서 초기우식병소는 치아우식증의 조기 탐지 및 진단과 더불어 재광화 치료와 관련된 연구에서 핵심이 되고 있다.

치아의 탈회 및 재광화에 대한 실험실 연구에서는 대부분 인공적으로 초기우식병소를 형성하여 사용하고 있다. 인공 초기우식병소는 자연적으로 형성된 실제 초기우식병소와 비교했을 때 실험적으로 용이한 장점이 있다. 우선 간단한 화학적 조성으로 구성된 탈회용액으로 일정한 깊이의 초기우식병소를 형성해내는 것이 가능하다. 또한 초기우식병소를 형성하는 데 소요되는 시간을 크게 단축할 수 있다<sup>3)</sup>.

인공 초기우식병소는 구강 내에서 자연적으로 발생한 실제 초기우식병소를 모사한 것이므로 그 특징을 유사하게 재현해낼 수 있어야 한다. 초기우식병소는 탈회로 인한 무기질 소실량이 표층부보다 표면 하방부에서 큰 표면하방병소이다<sup>4,6)</sup>. 그리고 일반적으로 재광화 물질의 효과에 관한 연구에서 사용되는 인공 초기우식병소의 깊이는 약 50~150  $\mu\text{m}$ 으로 알려져 있다<sup>7)</sup>. 따라서 이 범위 내에서 인공 초기우식병소의 깊이를 확보하고 동시에 초기우식증과 유사한 무기질 분포 양상을 재현해낼 수 있는 방법이 필요하다.

인공 초기우식병소를 형성하기 위한 방법 중 하나는 탈회용액을 사용하는 것이다. 과거에 산 완충 용액을 기본구성요소로 하는 탈회용액을 개발하기 위한 많은 실험실 연구가 이루어져 왔다<sup>8-12)</sup>. 주로 탈회용액을 구성하는 유기산의 종류와 농도, 법랑질 구성 무기질의 함량, 수소이온농도(pH), 탈회시간, 표면 용해 억제제(surface dissolution inhibitor) 또는 표면 보호제(surface-protective agent)의 조성과 탈회용액의 점도에 관한 연구가 이루어졌으며, 이 요소들의 적절한 배합이 인공 초기우식병소를 형성하는 데 중요한 것으로 강조되었다.

이 요소들 중에서 표면 용해 억제제와 표면 보호제는

탈회과정에서 법랑질 표면이 부식되는 것을 방지하기 위하여 첨가되는 물질이다. 특히 이 물질들은 용해된 무기질의 저장 및 공급을 비롯하여 획득피막과 같은 보호 역할을 하는 것으로 알려져 있다<sup>13,14)</sup>. 일부 선행 연구에서는 탈회용액에 불소와 diphosphonate 계열의 무기염을 표면 용해 억제제로 첨가하였다. Borsboom 등<sup>9)</sup>은 미량의 불소를 첨가한 아세트산 용액에서 우치에 표면층이 존재하는 병소가 형성된 것을 관찰하였고, Featherstone 등<sup>15)</sup>은 MHDP (methyl-diphosphonate)를 첨가한 젯산 용액에서 사람 치아에 형성된 병소가 자연 초기우식병소와 유사한 표면하방병소 형태를 보이는 것을 관찰하였다. 다른 한편으로는 hydroxyethyl cellulose (HEC), gelatin, 폴리아크릴산(polyacrylic acid)을 표면 보호제로 사용한 연구가 진행되기도 하였다. Gary<sup>16)</sup>는 HEC를, Silverstone<sup>17)</sup>은 gelatin을 각각 표면 보호제로 첨가한 젯산 용액으로 사람 치아에 인공 초기우식병소를 형성했을 때, 상대적으로 표면층이 보호된 표면하방병소가 형성된 것을 관찰하여 표면 보호제가 인공 초기우식병소의 구조 형성에 중요한 역할을 하는 것을 보인 바 있다.

한편 White<sup>18)</sup>는 수산화인회석을 50% 포화시킨 젯산 용액에 폴리아크릴산의 한 종류인 카보폴 907 (Carbopol<sup>®</sup> C907)을 표면 보호제로 첨가하여 96시간 동안 우치에 인공 초기우식병소를 형성하였다. 그 결과 조직학적으로 자연 초기우식병소와 유사하면서 약 80  $\mu\text{m}$ 의 일정한 깊이를 보이는 병소를 형성할 수 있었다. 합성 고분자 물질인 카보폴(Carbopol<sup>®</sup> polymers)은 수용액 상태에서 중화제 첨가에 따라 점성을 띠는 성질 때문에 흔히 치료용 약제나 미용 물질에 점증제로 활용되고 있다<sup>19,20)</sup>. 탈회용액에 첨가된 카보폴은 끈적이는 성질로 인해 치아 표면에 대한 부착력이 증가되고 법랑질 표면에서 이온 교환의 층을 형성하는 것으로 알려져 있다<sup>20,21)</sup>. 또한 Budz 등<sup>21)</sup>은 젯산 용액에 첨가된 카보폴 907의 농도를 0%에서 0.2%까지 증가시킨 결과 법랑질 결정이 용해되는 양과 속도가 감소되어 표면 보호제로서의 역할을 확인한 바 있다.

그러나 현재 카보폴 907은 제품 생산이 중단되어 대신 사용할 수 있는 대체물질의 확보가 필요한 실정이다. 이를 위해서 폴리아크릴산의 다른 종류인 카보폴 2050 (Carbopol<sup>®</sup> ETD 2050)이라는 물질이 대두되고 있으나 이를 사용하기 위해서는 면밀한 평가가 필요하다. 선행

연구에서 카보폴 2050이 첨가된 탈회용액의 인공 초기우식병소 형성 속도를 평가한 바 있다<sup>22)</sup>. 그러나 이 연구에서는 탈회용액에 카보폴 907과 카보폴 2050을 각각 0.2%의 동일한 농도로 첨가하였고, 편광현미경으로 관찰된 병소 깊이만을 측정하여 병소가 형성되는 속도를 비교하였기 때문에 조직학적 특성이나 무기질 분포에 대해서는 확인할 수 없었다. 두 물질이 유사한 물리적 특성을 가지고 있다고 하더라도 폴리아크릴산의 종류에 따라 병소 내의 무기질 분포와 깊이 형성에 어떤 영향을 미칠지에 대해서는 연구된 바 없다. 또한 카보폴 907을 이용하여 초기우식병소를 형성하는 방법은 실험실마다 차이가 있어 최근 탈회용액 내에 포함되는 이 물질의 농도는 0.2% 또는 2%로 다르게 사용된다<sup>23,24)</sup>. 과거 선행연구에서는 치아 구성 무기질이 포함되지 않은 젯산 용액에 카보폴 907을 0.1%에서 0.5%까지 첨가하여 탈회병소를 형성하고 표면 보호력을 평가한 결과 표면경도에 의한 표면 보호력은 다소 차이가 있었다고 보고한 바 있어 카보폴의 농도에 의한 표면 보호 정도와 병소의 무기질 분포를 평가하는 것이 필요하다<sup>18)</sup>.

따라서 초기우식병소를 형성하기 위하여 카보폴 907을 대신하여 카보폴 2050을 활용하기에 앞서, 이 물질을 적용하여 인공 초기우식병소를 형성할 경우 그 병소의 깊이와 무기질 분포 및 조직학적 특징에 대한 정량적인 평가가 선행되어야 한다. 더불어 실험실 연구에 적합한 초

기우식병소를 만들어내기 위하여 카보폴 2050의 농도에 대한 영향을 평가하는 것도 필요하다.

그러므로 본 연구에서는 카보폴 2050을 다양한 농도로 첨가된 탈회용액으로 인공 초기우식병소를 형성하고 그 깊이와 무기질 분포 및 조직학적 특징을 비교함으로써 카보폴 2050의 농도가 인공 초기우식병소에 미치는 영향을 확인하고자 하였다.

## 연구대상 및 방법

### 1. 연구방법

본 연구에서는 카보폴 2050을 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0%로 첨가한 다섯 가지 탈회용액을 사용하여 인공 초기우식병소를 형성한 후, 병소의 특징을 크게 두 가지 관점에서 평가하였다. 첫째, 법랑질 표면의 변화를 평가하기 위하여 탈회 전과 후에 표면미세경도(Surface microhardness, SMH)를 비커스 경도(Vickers microhardness number, VHN)로 측정하였다. 둘째, 인공 초기우식병소의 내부에서 발생한 변화를 평가하기 위하여 누프 경도(Knoop microhardness number, KHN)를 이용한 횡절단면의 미세경도(Cross-sectional microhardness, CSMH) 측정과 편광현미경(Polarized light microscopy, PLM) 분석을 시행하였다 (Fig. 1).

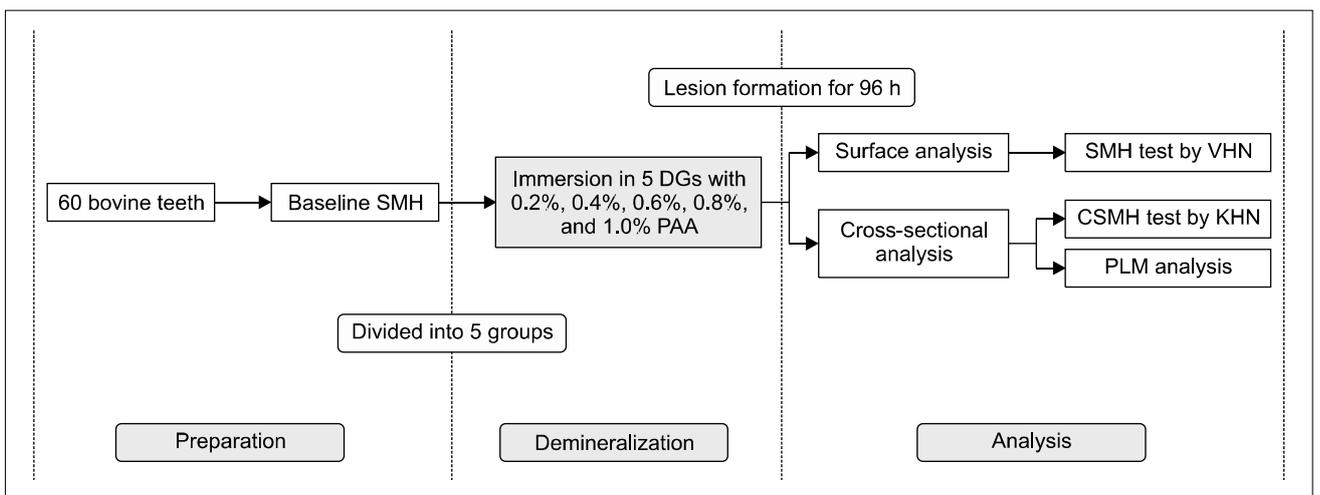


Fig. 1. Schematic of study procedure. SMH=surface microhardness; DGs=demineralizing gels; PAA=polyacrylic acid (Carbopol<sup>®</sup> ETD 2050); CSMH=cross-sectional microhardness; PLM=polarized light microscopy.

**2. 시편제작 및 실험군 설정**

균열이나 마모, 치아우식병소가 관찰되지 않는 건전한 우전치의 순면에서 6×4 mm 크기로 법랑질 시편을 절삭하였다. 법랑질 시편을 아크릴 블록(2×1.2×0.8 cm)에 자가중합형 아크릴릭 레진(Ortho-Jet, Lang Dental Mfg. Co., Inc., USA)을 이용하여 매몰한 후, 시편의 표면을 냉각수 공급하에서 600~1,200 grit의 연마지를 이용하여 단계적으로 연마하였고 미세경도기(Microhardness tester, JT Toshi Inc., Japan)를 이용하여 표면미세경도(SMH)를 측정하였다. Vickers indentor를 법랑질 표면의 상, 하, 좌, 우 4부위에서 200 g의 하중으로 10초간 압인한 후 초기 SMH (VHN<sub>baseline</sub>)을 측정하였고, 평균 VHN이 310~340 범위에 있는 60개의 시편을 선택하여 군당 12개씩 5개 군에 배정하였다. 모든 시편의 절반(3×4 mm)의 면적에 내산성의 바니시를 도포하여 건전한 법랑질을 보호하였고, 나머지 절반(3×4 mm)은 탈회용액에 노출되도록 window를 형성하였다.

**3. 탈회용액의 제조 및 인공 초기우식병소의 형성**

0.1 M의 젓산 용액에 수산화인회석(calcium phosphate tribasic, Sigma, USA)을 50% 포화시킨 후, 카보폴 2050 (Carbopol<sup>®</sup> ETD 2050 polymer, Noveon Inc., USA)을 전체 부피의 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0%가 되도록 첨가하여 총 다섯 가지 탈회용액을 제조하였다. 이후 50% NaOH (50%-sodium hydroxide solution, Daejung, Korea)를 첨가하여 탈회용액의 최종 pH를 5.0으로 조절하였다. 표면이 연마된 시편을 각각 40 ml의 탈회용액에 넣어 37°C에서 96시간 동안 침적시켜 인공 초기우식병소를 형성하였다.

**4. 탈회 후 표면미세경도의 감소율 산출**

법랑질 표면의 미세경도 변화를 평가하기 위하여 인공 초기우식병소를 형성한 후에 window 부분에서 초기경도와 동일한 방법으로 SMH (VHN<sub>after</sub>)을 측정하였다. 각 시편에서 초기 SMH (VHN<sub>baseline</sub>)에 대한 탈회 전과 후의 SMH 감소량을 백분율로 산출하여 비교하였다 [ $\Delta$ SMH%= 100(VHN<sub>baseline</sub> - VHN<sub>after</sub>)/VHN<sub>baseline</sub>].

**5. 횡절단면의 미세경도를 통한 전체 병소 깊이 및 총무기질 소실량 측정**

인공 초기우식병소의 전체적인 깊이와 총무기질 소실

량을 산출하기 위하여 횡절단면의 미세경도(CSMH)를 측정하였다. 법랑질 표면의 중앙 부위에서 수직으로 시편을 절단한 후 한 쪽 절반의 횡절단면을 노출시켜 다시 자가중합형 아크릴릭 레진에 매몰하였고, 600~1,200 grit의 연마지로 연마하였다. 정상 법랑질과 인공 우식병소 부위의 횡절단면에 미세경도기의 Knoop indentor를 50 g의 하중으로 10초 동안 가하여 법랑질 표면으로부터 10 μm 간격으로 150 μm 깊이까지 깊이별 KHN을 측정하였다. 전체 병소 깊이(total lesion depth)는 해당 시편에서 측정된 정상법랑질 부위의 KHN과 인공 우식병소 부위의 KHN이 일치하는 깊이로 산출하였다. 무기질 함량은 깊이별 KHN을 부피당 광물질 비율(volume% mineral)로 환산한 후<sup>25)</sup>, 정상법랑질과 병소부위의 동일한 깊이에서 부피당 광물질 비율이 나타내는 차이를 면적으로 계산하여 탈회로 인한 총무기질 소실량(total mineral loss =  $\Delta$ volume% mineral × μm)을 산출하였다<sup>26)</sup>.

**6. 편광현미경을 이용한 병소 깊이 측정 및 조직학적 평가**

횡절단면의 미세경도를 측정하고 남은 다른 한쪽의 시편을 약 1 mm 두께로 잘라낸 후, 600 grit의 연마지를 이용하여 80~100 μm의 두께로 연마하였다. 연마된 시편을 증류수에 침윤시킨 후, 편광 현미경(CX31-P, Olympus Co., Japan)을 이용하여 100배율로 확대된 영상을 사진 촬영하였다. 얻어진 영상 자료는 Image analyzer (Image-Pro Plus v6.0, Media Cybernetics, Silver Spring, USA) 소프트웨어를 이용하여 법랑질 표면에서부터 병소 내에서 비교적 명확하게 관찰되는 경계(dark layer)까지의 깊이(lesion depth to the dark layer)를 측정하였고, 병소의 조직학적 특징을 관찰하여 군별로 비교 하였다.

**7. 통계분석**

각 실험 집단의 VHN 감소량과 병소의 깊이, 무기질 소실량의 차이는 유의수준 0.05에서 일원배치 분산분석(one-way ANOVA)으로 검정하였다. VHN 변화량의 구간 차이는 Tukey의 다중비교법으로 확인하였고, 병소의 깊이와 무기질 변화량의 구간 차이는 Scheffé 다중비교법으로 확인하였다. 모든 통계분석은 PASW Statistics 17.0 통계 패키지 프로그램(SPSS Inc., USA)을 이용하였다.

연구성적

1. 법랑질 표면의 미세경도 변화

각 군에서 산출된 표면미세경도의 변화율을 비교한 결과, 카보폴 2050 농도 증가와 표면미세경도의 감소율 사이에서 일정한 경향성을 발견할 수 없었다. 초기 표면경도에 비해서 96시간 동안 탈회시킨 후의 표면경도는 약 77%에서 80%까지 감소하였다. 이 중에서 0.4%군의 감소율은 약 80.7%로 0.2%군(77.3% 감소)과 0.6%군(77.1% 감소)에 비해 유의하게 컸던 반면(Table 1,  $p < 0.05$ ), 이는 상대적으로 고농도인 0.8%군(80.2% 감소) 및 1.0%군(78.3% 감소)과는 차이가 없었다( $p > 0.05$ ).

**Table 1.** Surface microhardness changes of each group by VHN

Concentrations of Carbopol 2050	N	VHN		$\Delta$ SMH%
		Baseline	After	
0.2%	10	330.1 (1.2) <sup>a</sup>	75.2 (13.0)	77.3 (3.4) <sup>a</sup>
0.4%	10	331.9 (8.6) <sup>a</sup>	63.9 ( 7.2)	80.7 (2.7) <sup>b</sup>
0.6%	10	330.2 (7.7) <sup>a</sup>	75.6 ( 7.1)	77.1 (2.1) <sup>a</sup>
0.8%	10	331.1 (9.0) <sup>a</sup>	65.5 ( 6.6)	80.2 (1.6) <sup>a,b</sup>
1.0%	10	327.3 (6.8) <sup>a</sup>	71.2 (11.9)	78.3 (3.5) <sup>a,b</sup>

Carbopol indicates Carbopol<sup>®</sup> ETD 2050 polymer.

$\Delta$ SMH%=100(VHN<sub>baseline</sub> - VHN<sub>after</sub>)/VHN<sub>baseline</sub>.

All values are means (standard deviation).

Within same column, different superscript letters denote significant differences between groups by Tukey's post hoc analysis at  $\alpha = 0.05$ .

**Table 2.** Total lesion depth and total mineral loss of demineralized enamel lesions in each group by CSMH

Concentrations of Carbopol 2050	N	Total lesion depth ( $\mu$ m)	Total mineral loss*
0.2%	9	84.2 (13.8) <sup>a</sup>	2,062.1 (254.6) <sup>a</sup>
0.4%	10	84.2 (15.8) <sup>a</sup>	2,121.0 (161.3) <sup>a,b</sup>
0.6%	7	87.9 ( 9.8) <sup>a</sup>	2,133.0 (119.5) <sup>a,b</sup>
0.8%	10	95.6 (22.0) <sup>a</sup>	2,420.5 (295.1) <sup>b</sup>
1.0%	10	88.5 (13.0) <sup>a</sup>	2,240.2 (226.4) <sup>a,b</sup>

All values are means (standard deviation).

\*Unit of total mineral loss is volume% mineral $\times$   $\mu$ m.

Within same column, different superscript letters denote significant differences between groups by Sheffé post hoc analysis at  $\alpha = 0.05$ .

2. 횡절단면의 미세경도 측정을 통한 전체 병소 깊이와 무기질 함량 변화

탈회 후에 형성된 전체 병소의 깊이는 0.2%군에서 약 84.2  $\mu$ m로 가장 얇았고, 0.8%군은 약 95.6  $\mu$ m로 가장 깊었다. 가장 고농도인 1.0%군에서는 0.8%군보다 전체 병소의 깊이가 7  $\mu$ m정도 얇았으나 모든 5개 군 간에서 나타난 차이는 통계학적으로 유의하지 않았다(Table 2,  $p > 0.05$ ).

각 군별 무기질 소실량 또한 전체 병소 깊이와 비슷한 결과를 나타냈다. 0.8%군의 무기질 소실량이 가장 컸으며 이는 가장 작은 0.2%군보다 약 17%만큼 유의하게 컸다( $p < 0.05$ ). 반면 1.0%군의 무기질 소실량은 0.8%보다 작았으나 두 군 간에 통계적으로 유의한 차이는 확인할 수 없었다( $p > 0.05$ ).

3. 편광현미경을 이용한 병소의 깊이 및 조직학적 형태 변화 비교

편광현미경 사진으로 관찰된 병소에서 비교적 뚜렷한 경계(dark layer)까지 측정된 병소 깊이는 카보폴의 함량이 높은 군일수록 증가하는 경향을 보였다(Table 3). 1.0%군의 병소 깊이가 평균 47.3  $\mu$ m로 가장 깊었고, 이는 평균 31.8  $\mu$ m로 가장 얇은 병소 깊이를 보인 0.2%군보다 약 49% 유의하게 큰 것으로 확인되었다( $p < 0.05$ ).

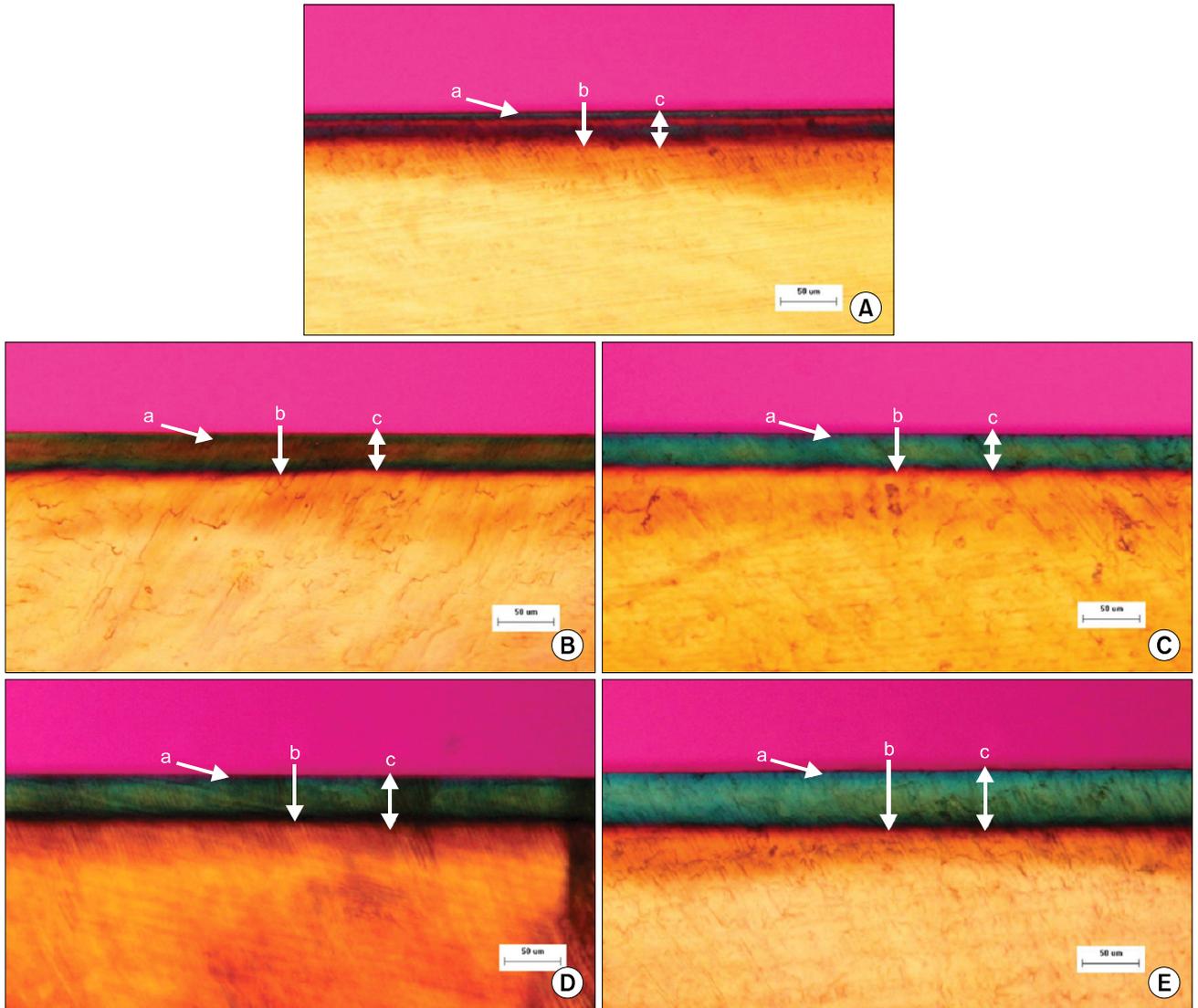
편광현미경으로 관찰된 병소의 표면은 인접한 정상 법랑질의 표면과 일직선상으로 연결되어 부식되지 않고 보호되었음을 확인하였다. 반면, 병소의 내부 형태는 5개 군에서 모두 정상법랑질과 다른 구조를 나타내고 있

**Table 3.** The lesion depth to the dark layer in demineralized enamel lesions on polarized light micrographs

Concentrations of Carbopol 2050	N	Lesion depth to the dark layer ( $\mu$ m)
0.2%	10	31.8 (4.6) <sup>a</sup>
0.4%	10	33.9 (1.7) <sup>a,b</sup>
0.6%	10	37.2 (2.5) <sup>b</sup>
0.8%	9	45.7 (2.9) <sup>c</sup>
1.0%	6	47.3 (5.2) <sup>c</sup>

All values are means (standard deviation).

Within same column, different superscript letters denote significant differences between groups by Sheffé post hoc analysis at  $\alpha = 0.05$ .



**Fig. 2.** Polarized light micrographs for 5 groups ( $\times 100$ ). (A) 0.2% Carbopol, (B) 0.4% Carbopol, (C) 0.6% Carbopol, (D) 0.8% Carbopol, and (E) 1.0% Carbopol (a=surface zone; b=dark layer; c=lesion depth to the dark layer).

었다. 법랑질의 가장 바깥부분에서부터 병소의 깊이별 무기질 분포가 층으로 구분되어 차이가 있음이 관찰되었고, 병소의 대부분을 차지하는 부분인 병소 본체와 구분되어 관찰되는 표면층을 확인할 수 있었다(Fig. 2).

### 고안

카보폴 2050은 폴리아크릴산 폴리머(polyacrylic acid polymer)의 한 종류로 다른 카보폴 제품보다 분산되기 쉽고 낮은 농도로 첨가된 콜로이드의 유동성이 좋아 다

루기 쉽다는 장점이 있다. 또한 기존의 탈회용액에 사용되던 폴리아크릴산인 카보폴 907과 유사하게 중화제 첨가에 따라 점도가 증가하는 특징이 있어 일상생활에서 치료용 약제와 화장품의 점증제로 사용된다. 그러나 카보폴 2050은 구조상 교차결합 고분자(cross-linked polymer)이므로 선형 고분자(linear polymer)인 카보폴 907보다 물에 대한 용해성이 낮아, 콜로이드 상태에서 중화제를 첨가할 경우 기존의 카보폴 907과 동일한 농도에서도 다른 점도를 보인다<sup>19)</sup>.

이에 본 연구에서는 기존의 카보폴 907과 물리적 성질

이 유사한 카보폴 2050으로 인공 초기우식병소를 형성하여 병소의 깊이 및 무기질 분포에 대한 정량적 평가를 시행하여 기존 물질을 대체할 수 있는 물질로서 카보폴 2050의 활용 가능성을 평가하였다. 또한 카보폴 2050의 적절한 실험실 연구 조건을 찾기 위한 기초 연구로서 선행연구에서 사용한 카보폴 907의 농도 범위 내에서 카보폴 2050의 농도를 0.2%에서부터 1.0%까지 지정하여 농도에 의한 인공 초기우식병소의 변화를 비교 평가하였다.

본 연구에서 측정된 표면미세경도 감소율은 0.4%군만이 0.2%군 및 0.6%군과 차이를 보였을 뿐, 나머지 군 간에서는 유의한 차이를 확인할 수 없었기 때문에 전체적으로 0.2%에서 1.0%까지 카보폴 2050의 농도변화에 의한 법랑질 표층의 경도 변화는 크지 않다고 판단되었다. 카보폴 폴리머는 기본적으로 카르복실기(carboxylate groups)를 가지고 있어 탈회용액 내의 칼슘 이온과 결합할 수 있다<sup>19)</sup>. 이 경우 탈회용액 내 치아 구성 무기질에 대한 포화도를 더욱 낮추기 때문에 탈회 반응이 촉진될 수 있다. van der Reijden 등<sup>20)</sup>의 선행연구에 따르면 카보폴 934를 0.2% 첨가한 탈회용액과 재광화용액에 수산화인회석 디스크를 침적시키고 디스크에서 용해되어 나온 칼슘의 농도를 측정된 결과, 침적 전보다 더 많은 양의 칼슘이 측정되어 카보폴의 칼슘 결합 효과로 인한 탈회가 두 용액에서 모두 발생한 것을 확인하였다. 이에 의하면 카보폴의 함량이 많을수록 더 많은 칼슘과의 결합 효과로 인해 탈회정도가 크다고 추정할 수 있으나 본 연구에서는 카보폴의 더 많은 함량으로 인해 표면경도가 감소하는 경향은 없었다. 따라서 본 연구에서는 카보폴 2050의 경우 0.2% 이상의 농도에서 유사한 수준의 표면 보호력을 보이는 것으로 사료되었다.

횡절단면의 미세경도 측정법은 누프 경도를 이용하여 무기질 소실량을 정량적으로 측정할 수 있는 평가 방법이다. Featherstone 등<sup>25)</sup>은 무기질 함량의 측정방법 중 gold standard로 알려진 Transverse microradiography와 횡절단면 미세경도 측정법을 이용하여 법랑질 시편의 무기질 소실량을 비교 평가한 결과 두 방법의 결과가 매우 높은 상관성을 보인다고 보고하였고, 누프 경도를 무기질 함량을 나타내는 부피당 광물질 비율로 변환할 수 있는 공식을 제안하였다. 이에 본 연구에서 횡절단면의 미세경도를 측정된 결과, 인공 초기우식병소의 전체 병소 깊이는 약 84.2~95.6  $\mu\text{m}$ 이었으며 5개 군 간 차이는 확인되

지 않았다. 이러한 결과는 1987년 White<sup>18)</sup>가 카보폴 907의 농도를 0.1%에서 0.5%까지 조정된 젓산 용액으로 치아에 탈회병소를 형성하였을 때, 병소의 깊이는 시간에 따라 비례하여 증가하였지만 카보폴 907의 농도에 따른 차이는 나타나지 않았다는 보고와 유사하다. 반면 본 연구에서 미세경도를 측정하여 산출한 총무기질 소실량은 상대적으로 고농도인 0.8%군과 1.0%에서 가장 컸으며 두 군간 무기질 소실량은 유사하였다. 그러나 실험결과 0.8%군 보다는 1.0%군 내에서의 편차가 더 작은 것으로 미루어 보아, 탈회용액 내 카보폴 2050의 농도를 1.0%로 조정하는 것이 좀 더 일관적으로 인공 초기우식병소를 재현할 수 있을 것으로 사료된다.

편광현미경을 이용하여 병소를 관찰할 경우, 무기질 소실 및 표면층의 존재 여부를 확인하는 것이 가능하다<sup>27,28)</sup>. 본 연구에서는 편광현미경 사진에서 표면의 존재를 확인하였고, 병소 표면에서부터 명확한 경계까지 병소 깊이를 측정된 결과 약 31.8~47.3  $\mu\text{m}$ 로 나타났으며 카보폴 2050의 농도가 높은 군일수록 증가하는 결과를 보였다. 이러한 결과는 카보폴 2050의 함량이 낮은 군일수록 소실된 무기질의 대부분이 법랑질의 표면에 가까운 부위에서 용해된 것으로 판단된다.

본 연구에서는 초기우식증의 병소 깊이를 관찰하기 위해 누프 경도를 이용한 횡절단면의 미세경도 측정법과 편광현미경 분석이라는 두 가지 분석방법을 이용하였다. 그런데 편광현미경 사진 상에서 측정된 병소 깊이는 누프 경도에 의해 산출된 병소 깊이의 절반 수준이었다. 이는 편광현미경 사진을 분석하는 과정에서 우식병소 내에서 발생하는 미세한 무기질의 변화량을 명확히 반영하지 못한 결과일 것으로 사료된다. 즉, 편광현미경 사진 분석은 인공 초기우식병소의 병소본체 부위에 해당하는 것으로 여겨지는 부위에서도 육안으로 명확히 구분지어지는 일부 부위만을 측정하였기 때문에 조직학적으로 뚜렷하지 않게 나타나는 초기우식병소의 암흑층과 투명층 부위는 연구결과에 반영되지 못하였다. 이 때문에 두 분석방법 간에 결과의 차이가 발생한 것으로 사료된다. 그러나 편광현미경 사진에 의해 우식병소 내의 무기질 분포 변화 양상을 시각적으로 파악할 수 있었다.

병소의 조직학적 구조에서 카보폴 2050의 함량이 높은 군일수록 표면층이 뚜렷하게 관찰되지 않았다. 이러한 현상은 탈회용액의 점도에 의한 확산 기전의 변화와

초기우식병소의 표면층 형성에 필요한 시간 부족 때문인 것으로 추정된다. Anderson과 Elliott<sup>29)</sup>은 탈회용액 내 어떤 요소의 농도 차에 의해 확산 특성이 변할 때, 또 다른 요소의 확산과 탈회 과정 중에 발생하는 무기질 이온의 이동 양상이 달라진다고 보고한 바 있다. 그리고 Theuns 등<sup>30)</sup>은 초기우식병소의 표면층이 형성되는 과정에는 불소와 칼슘, 인산이온과 같은 재광화에 관여하는 이온들이 필요할 뿐만 아니라 탈회가 지속되는 시간도 중요한 요인이라고 보고하였다. 또 다른 연구에서는 탈회가 진행되기 시작한 초기 병소에서는 표면층이 보이지 않더라도 일정 시간이 경과한 후에는 무기질 침착으로 표면층이 형성되기 시작한다고 보고하였다<sup>31)</sup>. 이에 본 연구에서는 카보폴 2050의 함량에 따른 탈회용액의 다양한 점도가 법랑질의 탈회 및 재광화 과정에서 발생하는 이온 교환 과정에 영향을 미쳤으며, 카보폴 2050이 1.0%에 가까운 농도로 포함될수록 초기우식병소의 조직학적 구조를 형성하기 위해서는 96시간 보다 더 많은 시간을 필요로 한다고 판단하였다.

본 연구는 선행 연구에서 소개된 탈회용액을 이용하여 인공 초기우식병소를 형성해내기 위해 새로운 표면 보호제인 카보폴 2050의 활용 가능성과 이 물질의 농도에 의한 영향을 평가한 기초 연구이다. 따라서 향후 탈회용액의 pH와 탈회 시간에 따른 탈회 조건 변화에 관한 연구를 통하여 보다 초기우식병소에 가까운 인공 초기우식병소의 형태와 깊이를 구현해 낼 수 있도록 하는 것이 필요할 것으로 사료된다.

## 결론

본 연구에서는 새로운 형태의 표면 보호제인 카보폴 2050의 농도를 0.2%에서 1.0%까지 변화시킨 pH 5.0의 탈회용액에 우치 시편을 96시간 동안 단순 침적시켜, 카보폴 2050의 농도변화에 따른 인공 초기우식병소의 깊이와 병소내부의 조직학적 변화 양상을 비교하였으며 그 결과, 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 카보폴 2050 농도의 증가에 따른 각 군 간 법랑질 표면의 미세경도 감소율을 비교한 결과 일정한 경향성을 보이지 않았다.
2. 횡절단면의 미세경도 측정 결과 카보폴 2050이 0.2%에서 1.0%까지 포함된 탈회용액에서 약 84.2~95.6  $\mu\text{m}$

깊이의 병소가 형성되었고, 무기질 소실량은 0.2%군에 비해 0.8% 군에서 유의하게 큰 것으로 나타났다( $p < 0.05$ ).

3. 편광현미경 사진에서 측정한 병소의 깊이는 카보폴 2050의 농도에 비례하여 증가하였고 1.0%군에서 가장 컸다( $p < 0.05$ ).

4. 편광 현미경으로 조직학적 특징을 관찰한 결과 카보폴 2050의 농도가 높을수록 병소의 표면층이 뚜렷하게 관찰되지 않았다.

이상의 결과로 카보폴 2050은 조직학적으로 초기우식병소와 유사한 인공우식병소를 재현할 수 있지만 농도에 따라 병소의 무기질의 소실량 및 분포에 영향을 미치는 것으로 확인되어 향후 초기우식병소의 재현을 위한 최적의 조건을 탐색해야 할 것이다.

## 참고문헌

1. Featherstone JD. The science and practice of caries prevention. J Am Dent Assoc 2000;131(7):887-899.
2. Pretty IA. Caries detection and diagnosis: novel technologies. J Dent 2006;34(10):727-739.
3. Magalhães AC, Moron BM, Comar LP, Wiegand A, Buchalla W, Buzalaf MAR. Comparison of cross-sectional hardness and transverse microradiography of artificial carious enamel lesions induced by different demineralising solutions and gels. Caries Res 2009;43(6):474-483.
4. Silverstone LM. Structure of carious enamel, including the early lesion. Oral Sci Rev 1973;3:100-160.
5. Silverstone LM. Observations on the dark zone in early enamel caries and artificial caries-like lesions. Caries Res 1967;1(3):261-274.
6. Silverstone LM. The surface zone in caries and in caries-like lesions produced *in vitro*. Br Dent J 1968;125(4):145-157.
7. White DJ. The application of *in vitro* models to research on demineralization and remineralization of the teeth. Adv Dent Res 1995;9(3):175-193.
8. Margolis HC, Murphy BJ, Moreno EC. Development of carious-like lesions in partially saturated lactate buffers. Caries Res 1985;19(1):36-45.
9. Borsboom PC, vd Mei HC, Arends J. Enamel lesion formation with and without 0.12 ppm F in solution. Caries Res 1985;19(5):396-402.
10. Buskes JA, Christoffersen J, Arends J. Lesion formation and lesion remineralization in enamel under constant composition conditions. Caries Res 1985;19(6):490-496.
11. Pearce EI. A microradiographic and chemical comparison of *in vitro* systems for the simulation of incipient caries in abraded bovine enamel. J Dent Res 1983;62(9):969-974.
12. Featherstone JD, Duncan JF, Cutress TW. A mechanism for dental caries based on chemical processes and diffusion phenomena during *in-vitro* caries simulation on human tooth

- enamel. Arch Oral Biol 1979;24(2):101-112.
13. Zahradnik RT, Moreno EC, Burke EJ. Effect of salivary pellicle on enamel subsurface demineralization *in vitro*. J Dent Res 1976;55(4):664-670.
  14. Damato FA, Strang R, Stephen KW. Comparison of solution- and gel-prepared enamel lesions—an *in vitro* pH-cycling study. J Dent Res 1988;67(8):1122-1125.
  15. Featherstone JD, Duncan JF, Cutress TW. A mechanism for dental caries based on chemical processes and diffusion phenomena during *in vitro* caries simulation on human tooth enamel. Arch Oral Biol 1979;24(2):101-112.
  16. Gray JA. Kinetics of enamel dissolution during formation of incipient caries-like lesions. Arch Oral Biol 1966;11(4):397-422.
  17. Silverstone LM. The primary translucent zone of enamel caries and of artificial caries-like lesions. Br Dent J 1966;120(10):461-471.
  18. White DJ. Use of synthetic polymer gels for artificial carious lesion preparation. Caries Res 1987;21(3):228-242.
  19. The Lubrizol Corporation. Carbopol 2050 data sheets. [online] <http://www.lubrizol.com/PersonalCare/Products/Carbopol/ETD2050.html> 검색일자 2010.5.21.
  20. van der Reijden WA, Buijs MJ, Damen JJ, Veerman EC, ten Cate JM, Nieuw Amerongen AV. Influence of polymers for use in saliva substitutes on de- and remineralization of enamel *in vitro*. Caries Res 1997;31(3):216-223.
  21. Budz JA, LoRe M, Nancollas GH. The influence of high- and low-molecular-weight inhibitors on dissolution kinetics of hydroxyapatite and human enamel in lactate buffers: a constant composition study. J Dent Res 1988;67(12):1493-1498.
  22. 이준행. 카보폴 907과 카보폴 2050의 범랑질 탈회 속도 비교[박사학위논문]. 천안:단국대학교 대학원;2009.
  23. Reynolds EC. Remineralization of enamel subsurface lesions by casein phosphopeptide-stabilized calcium phosphate solutions. J Dent Res 1997;76(9):1587-1595.
  24. Lynch RJ, Momy U, ten Cate JM. Effect of lesion characteristics and mineralizing solution type on enamel remineralization *in vitro*. Caries Res 2007;41(4):257-262.
  25. Featherstone JD, ten Cate JM, Shariati M, Arends J. Comparison of artificial caries-like lesions by quantitative microradiography and microhardness profiles. Caries Res 1983;17(5):385-391.
  26. White DJ, Featherstone JD. A longitudinal microhardness analysis of fluoride dentifrice effects on lesion progression *in vitro*. Caries Res 1987;21(6):502-512.
  27. Arends J, Christoffersen J. The nature of early caries lesions in enamel. J Dent Res 1986;65(1):2-11.
  28. Huysmans MC, Longbottom C. The challenges of validating diagnostic methods and selecting appropriate gold standards. J Dent Res 2004;83(Spec Iss C):C48-C52.
  29. Anderson P, Elliott JC. Coupled diffusion as basis for subsurface demineralization in dental caries. Caries Res 1987;21(6):522-525.
  30. Theuns HM, van Dijk JW, Driessens FC, Groeneveld A. The surface layer during artificial carious lesion formation. Caries Res 1984;18(2):97-102.
  31. Featherstone JD. Diffusion phenomena during artificial carious lesion formation. J Dent Res 1977;56(Spec Iss D):D48-D52.