

Dentinal Tubules Occluding Effect Using Nonthermal Atmospheric Plasma

Chang Han Lee¹, Young Min Kim², Gyoo Cheon Kim^{2,3*} and Shin Kim^{1*}

¹Department of Paediatric Dentistry, School of Dentistry, Pusan National University

²Research and Development Center, Feagle Co., Ltd

³Department of Oral Anatomy, School of Dentistry, Pusan National University

(received June 8, 2018; revised June 22, 2018; accepted June 23, 2018)

Nonthermal atmospheric plasma has been studied for its many biomedical effects, such as tooth bleaching, wound healing, and coagulation. In this study, the effects of dentinal tubules occlusion were investigated using fluoride-carboxymethyl cellulose (F-CMC) gel, nano-sized hydroxyapatite (n-HA), and nonthermal atmospheric plasma.

Human dentin specimens were divided to 5 groups (group C, HA, HAF, HAP, and HAFP). Group HA was treated with n-HA, group HAF was treated with n-HA after a F-CMC gel application, group HAP was treated with n-HA after a plasma treatment and group HAFP was treated with n-HA after a plasma and F-CMC gel treatment. The occlusion of dentinal tubules was investigated using scanning electron microscopy (SEM) and energy dispersive x-ray spectroscopy (EDS), which shows Ca/P ratio.

In the EDS results, a higher Ca/P ratio was shown in the groups including n-HA than in the control group. The specimens of group HAP and HAFP had a higher Ca/P ratio in retentivity. In the SEM results, there was not a significant difference in the amount of times applied.

Therefore, this study suggests F-CMC gel and n-HA treatment using nonthermal atmospheric plasma will be a new treatment method for decreasing hypersensitivity.

Key words: Fluorides, Dentin Sensitivity, Cold Plasma, Hydroxyapatites, Carboxymethyl Cellulose

*Correspondence to: Gyoo Cheon Kim, Department of Oral Anatomy, School of Dentistry, Pusan National University, Beomeo-ri, Mulgeum-eup, Yangsan-si, Gyongsangnam-do, 626-870, Korea
Tel: +82-51-510-8243, Fax: +82-51-510-8241
E-mail: ki91000m@pusan.ac.kr
ORCID : 0000-0003-3568-3529

*Correspondence to: Shin Kim, Department of Paediatric Dentistry, Pusan National University, Beomeo-ri, Mulgeum-eup, Yangsan-si, Gyongsangnam-do, 626-870, Korea
Tel: +82-55-360-5114
E-mail: shinkim@pusan.ac.kr
ORCID: 0000-0002-7202-7726

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

서론

상아질지각과민증은 열, 증발, 촉감, 삼투압, 화학적 자극에 반응하여 노출된 상아질에서 일어나는 단기간의 급성 통증으로 알려져 있으며, 감염이 아닌 노출된 상아질 표면에서 상아세관이 드러난 형태이다[1]. 상아질 지각과민증의 기전을 설명하는 몇 가지 가설이 있으나, 가장 흔히 받아들여지고 있는 것은 유체역학설이다[2]. 유체역학설에 의하면, 노출된 상아질의 열린 상아세관은 상아세관 내의 상아세관액을 이동하게 하여 간접적으로 치수 신경을 자극한다는 것이다. 이 이론에 의해 상아질 지각과민증의 처치는 노출된 상아세관을 폐쇄하거나 상아질 투과도를 감소시키고자 한다.

한편, 수산화인회석(hydroxyapatite; HA)은 인체의 경조직을 구성하는 기본성분이다. 사람 치아 법랑질의 외곽 1~2 mm에 위치하고 있으며, 뼈 조직의 이식 또는 뼈 재생의 재료로도 활용되고 있다. 나노 크기의 수산화인회석

(nano-hydroxyapatite; n-HA)은 생체친화성 및 생체활성이 우수한 물질로 의학과 치의학에서 사용되고 있다[3]. n-HA는 형태학적 구조가 치아의 법랑질의 결정과 유사하고 재광화력을 가지고 있어서 법랑질의 재건을 위한 물질로도 연구되고 있다[4]. 또한 많은 연구에서 상아세관 폐쇄에 있어 수산화인회석이 효과가 높으며, 수산화인회석 입자가 치아 위에 흡착되어 상아질 표면에 칼슘-인층을 형성하여 상아세관 폐쇄력이 상당히 높다고 하였다[4, 5].

불소는 치아우식증 예방과 초기 우식의 재광화를 위해 치의학 분야에서 가장 널리 사용되고 있는 물질로 법랑질 표면에서 치아의 주성분인 수산화인회석과 결합하여 불화인회석으로 변함으로써 탈회를 억제하고 재광화를 촉진시킨다[6]. 치과에서 주로 사용하는 불소 제제에는 불화나트륨(sodium fluoride; NaF) 용액, acidulated phosphate fluoride(APF) 젤, 불화석(SnF₂) 등이 있으며 최근에는 5% NaF에 천연레진을 혼합한 불소 바니쉬가 많이 이용되고 있다. 불화나트륨은 수소이온농도가 중성이기 때문에 치아와 치은에 자극이 없고 안전하며 이온분리가 잘 되는 특징이 있다[7]. APF는 일반적으로 1.23%의 불소농도를 사용하며 pH 3.5 정도이다. 많은 연구에서, APF 젤이 중성의 NaF보다 법랑질에 대한 불소 흡착력이 더 높다고 보고된 바 있으나[8, 9], APF 젤의 산성은 수복체의 거칠기를 증가시키며[10], 수복물을 침식시킬 수 있으므로 수복물을 가진 환자에게 적용할 경우에는 주의가 필요하다[11]. 불화석은 8% 용액을 주로 사용하며 강한 효과를 나타내지만 불안정하고 치은의 변색이나 자극을 유발하는 단점이 빈번히 지적된다.

물리학 또는 전기학에서 말하는 플라즈마는 기체에 강한 에너지를 공급해서 만들어진 새로운 형태의 상태를 말한다. 실험실에서 만들어진 플라즈마는 M. Faraday에 의하여 1835년경 처음으로 만들어졌으며 영국의 물리학자 Sir. William Crookers는 1879년에 전리된 기체는 이상 기체의 법칙을 따르지 않는다는 이유로 ‘제 4의 물질상태’로 정의하기도 했다. 플라즈마라는 용어를 처음 사용한 사람은 미국의 물리학자 랭뮤어(Langmuir)로 전기적 방전으로 인해 생기는 전하를 띤 양이온과 전자들의 집단을 플라즈마라고 정의하였다[12]. 플라즈마는 입자들의 열적 평형상태를 근거로 고온 플라즈마와 저온 플라즈마로 구별할 수 있으며, 산업 분야에서 고온으로 널리 사용되었는데, 저온의 대기압 플라즈마가 개발된 후 생명과학 분야에서 다양하게 연구되고 있다[13-15].

플라즈마의 가장 대표적인 특징은 다양하게 발생되는 활성종(active species)을 들 수 있다. 이 활성종은 수산화기(hydroxyl radical: OH·), 이온, 전자, 광자, 이온화된 가스와 소량의 자외선 등이 방출된다[12]. 플라즈마에는 다양

한 방전 입자, 활성종, 전기장 등을 가지고 있어서 사용되는 가스와 플라즈마 발생 모듈 종류에 따라 다양하게 적용가능하다. 또한 독성이 없고 저온이라 조직에 손상을 입히지 않고 쉽게 사용가능하다[16]. 최근에 이러한 저온 대기압 플라즈마가 생체에 미치는 영향이 체계적으로 연구되고 있으며 세포의 사멸과 재생을 이용한 암 치료, 살균 및 피부치료, 상처치유, 지혈, 치아미백 등의 다양한 효과를 보이고 있다[12]. 그러나 상아질 지각과민증 치료를 위하여 플라즈마를 활용한 연구는 아직 거의 없는 실정이다.

따라서 이 연구는 저온 대기압 플라즈마를 이용하여 n-HA와 F-CMC(fluoride-carboxymethyl cellulose)젤과 상아세관 폐쇄 효과를 연구함으로써 지각과민완화 처치에서 저온 대기압 플라즈마의 적용 타당성을 검토해 볼 목적으로 시도되었다.

재료 및 방법

1. 플라즈마 장비

본 연구에 사용된 플라즈마 장비는 두 전극 사이에 유전체가 있는 전형적인 유전격벽방전(dielectric barrier discharge; DBD) 방식의 플라즈마 장비이며, 유전체로 유리관이 사용되었다(Fig. 1). 고전압 사인과 전원 공급 장치를 사용하여 약 10 kHz의 주파수로 5 kV 전압을 인가하여 플라즈마를 발생시켰으며, 유량조절계(MFC)를 사용하여 2~3 slm (standard liter per minutes)의 고순도 헬륨 기체를 유리관 안으로 주입시켰다. 플라즈마 켜의 길이는 5~10 mm 정도이며 이 길이는 인가된 전압과 헬륨 기체의 유량에 따라 변화한다.

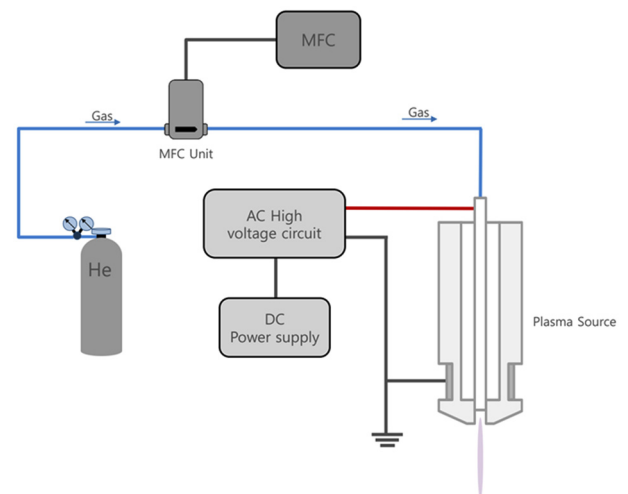


Fig. 1. Schematic diagram of plasma device.

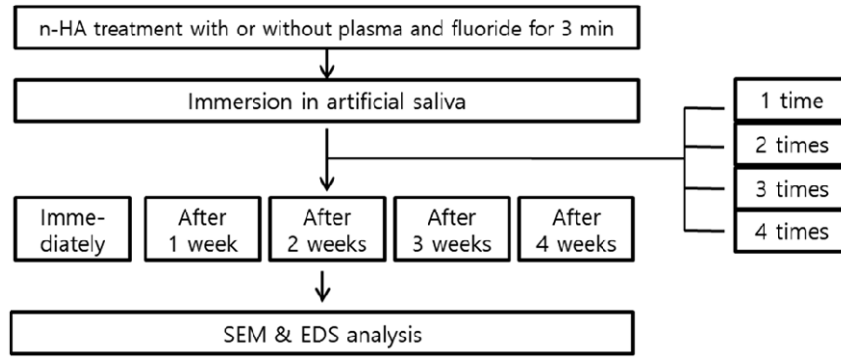


Fig. 2. Schematic diagram of the study protocol. The specimens were immersed in artificial saliva during the experiment.

2. 상아세관 폐쇄를 위한 처치

2-1. 시편준비

발치된 사람 대구치를 수집하여 그 중 치아우식증과 금이 가지 않은 건전한 대구치 170개를 선정하였다(IRB: PNUDH-2014-025). 치아들은 실험에 사용되기 전까지 미생물의 성장을 억제시키기 위해 0.4% sodium azide 용액에 보관되었다. water-cooled diamond saw를 이용하여 치수관에서 치아 장축에 수직방향으로 잘라 약 3 mm 두께의 원형 상아질 시편 170개를 만들었다. 모든 상아질 시편은 상아세관 노출을 위해 18% EDTA(pH 7.4)(Sigma aldrich, USA)에 30초 동안 vortexing 후 증류수로 3번 세척하였다.

2-2. n-HA 처리

이 연구에 사용된 n-HA의 입자는 20 nm이다(MKnano, Canada). n-HA powder를 상아질 시편에 도포하기 위하여 slurry를 만들었다. n-HA slurry는 CMC와 수산화인회석을 증류수와 섞어 만들었다. 사용된 불소젤은 5% 불화나트륨 F-CMC 젤로 증류수에 불화나트륨(Samcheon, Korea)과 CMC(Sigma aldrich, USA)를 섞어 만들었다.

10개의 시편은 대조군으로 두었고, 160개의 상아질 시편은 총 4개의 실험군(HA, HAP, HAF, HAFP)으로 나뉘었다. HA군은 상아질 시편 위에 n-HA slurry를 1 mm 두께로 도포해 주었다. HAP군은 상아질 시편에 플라즈마를 3분 동안 적용한 후 n-HA slurry를 도포하였다. HAF군은 상아질 시편에 불소를 3분 적용한 후 거즈를 이용하여 잔여 불소를 제거하고 n-HA slurry를 도포하였다. HAFP군은 상아질 시편에 플라즈마와 불소를 함께 3분 동안 적용한 후 거즈를 이용하여 잔여 불소를 제거하고 n-HA slurry를 3분간 도포하였다. n-HA 도포 후에 증류수와 칫솔을 이용하여 10회 칫솔질을 해주어 상아질 시편 위의 잔여물을 제거하였다. 대조군은 아무 처리를 하지 않고 인공타액에 담귀두었다. 각 실험군의 시편은 횡수별 효과를 보

기 위해 하루 간격으로 총 4회까지 n-HA slurry에 적용하였고, 도포 횡수별 유지 효과를 보기 위해 각 회당 4 주간 인공타액에 담귀두었다(Fig. 2).

2-3. 주사전자현미경 관찰

상아세관의 폐쇄 정도를 보기 위해 주사전자현미경(scanning electron microscopy, SEM; S3500N, HITACHI, Japan) 촬영을 하였다. 주사전자현미경 촬영을 위해 시편들을 2.5% glutaraldehyde(Sigma aldrich, USA)로 30분간 처리했다. 그 후 1% osmium tetroxide(Sigma aldrich, USA)를 30분간 처리하고 에탄올(Sigma aldrich, USA)로 저농도에서 고농도로 탈수시켰다(70%, 80%, 90%, 100%). 이후 hexamethyldisilazane(HMDS; Sigma aldrich, USA)을 사용하여 건조시켰다. 모든 시편은 알루미늄 판 위에 고정시켜 gold-sputter를 이용해 진공 상태에서 코팅시켰다. 주사전자현미경은 가속전압 15 kV에서 작동되었다. 모든 이미지는 2,000배와 5,000배의 배율로 무작위로 선택되어 촬영하였다.

2-4. Energy dispersive X-ray spectroscopy(EDS)

분석

상아질 시편 위에 새롭게 형성된 결정을 정량화하기 위하여 EDS(Supra40 vp, Carl zeiss, Germany) 분석을 시행했다. EDS를 통한 line scan 성분 분석은 15 kV에서 40배율로 시행되었다. 상아질 시편은 상하좌우로 나누어 똑같은 크기의 line을 지정해 지정한 line을 따라 칼슘(Ca)과 인(P)의 함량이 측정되었다. 측정된 칼슘과 인의 값을 통해 칼슘/인 비율(Ca/P ratio)을 구했다.

2-5. 통계분석

얻어진 결과값들은 SPSS 프로그램을 사용하여 통계처리 하였다. 실험군과 대조군의 결과값의 비교는 student t-test를 이용하였고, 실험군간의 비교는 one-way ANOVA

와 Bonferroni/Dunn post-hoc test를 이용하여 분석하였다. 유의수준은 0.05로 하였다.

결 과

대조군의 상아질 시편은 상아세관이 깨끗하게 노출되어 있었으며, HA군의 시편에서는 HA 결정이 상아질 시편 위로 보였다. HAF, HAP, HAFP군의 시편에서는 많은 양의 HA 결정이 시편을 덮고 있었으며, 상아세관 속에 박혀 상아세관 일부를 막고 있었다 (Fig. 3). 처리 횟수나 유지된 기간에 따른 상아세관 폐쇄 차이는 크게 나타나지 않았다.

EDTA로 탈회 후 인공타액에만 둔 대조군의 Ca/P ratio는 탈회 즉시에는 0.87, 인공타액에 1주, 2주, 3주, 4주간 둔 후에는 각각 0.89, 1.02, 1.04, 1.05였다.

실험군에서는 1회 도포 직후 Ca/P ratio를 분석한 결과, HA군은 1.07, HAF군은 1.06, HAP군은 1.06, HAFP군은 1.10이었다. 대조군과 비교하였을 때 HA, HAF, HAP, HAFP군의 결과값은 유의하게 높았다($p < 0.05$). 또한 HAFP군의 결과값은 HA, HAF, HAP군의 결과값과 비교하여 유

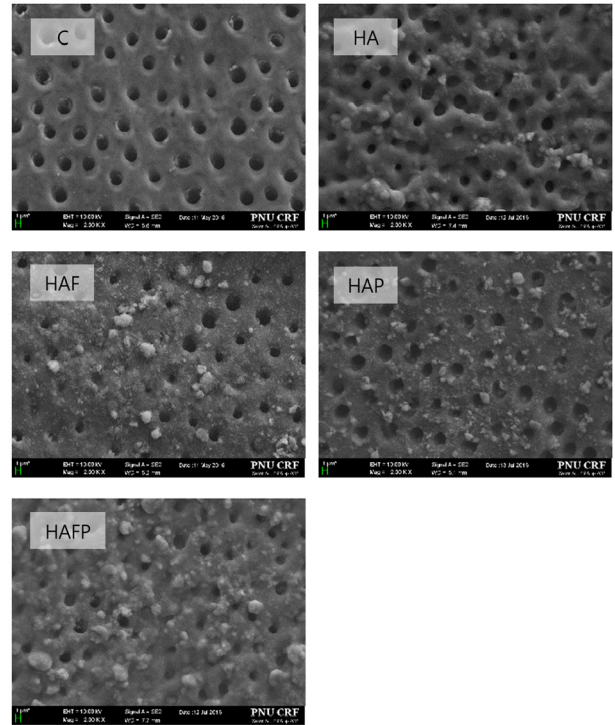


Fig. 3. The scanning electron microscope photographs of dental tubule after the treatment was done once.

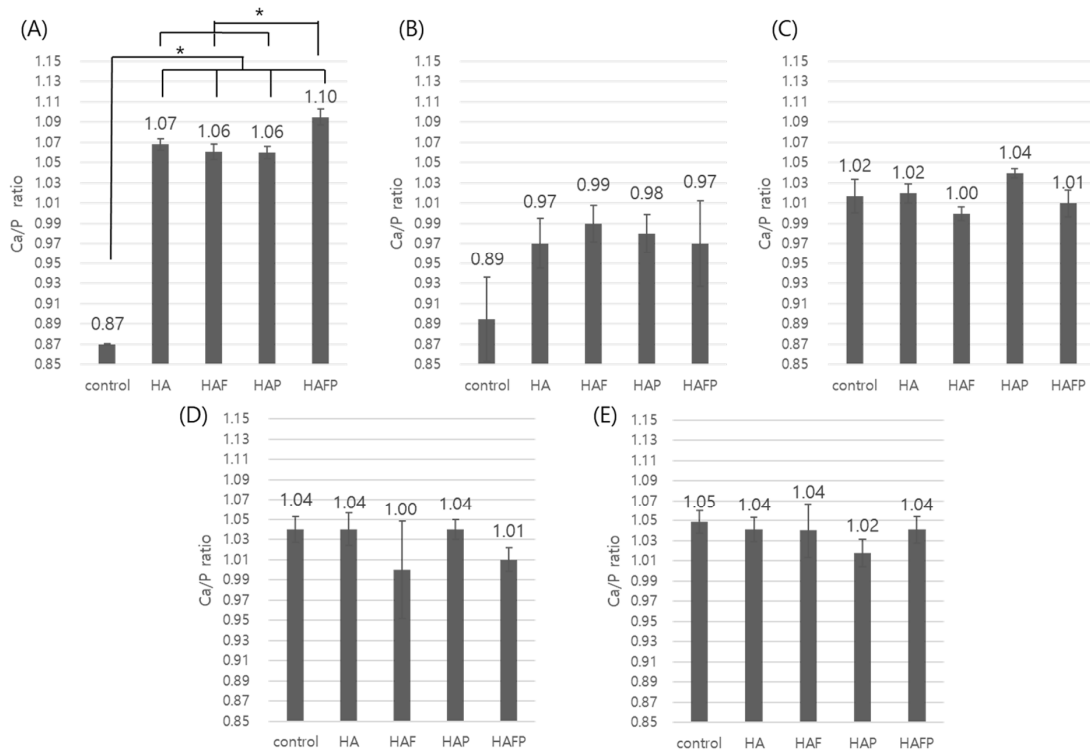


Fig. 4. The Ca/P ratio through line scan of EDS until 4 weeks when the treatment was done once. (A) The Ca/P ratio immediately after the treatment was done once. (B) The Ca/P ratio in 1 week after treatment was done once. (C) The Ca/P ratio in 2 weeks after treatment was done once. (D) The Ca/P ratio in 3 weeks after treatment was done once. (E) The Ca/P ratio in 4 weeks after treatment was done once.

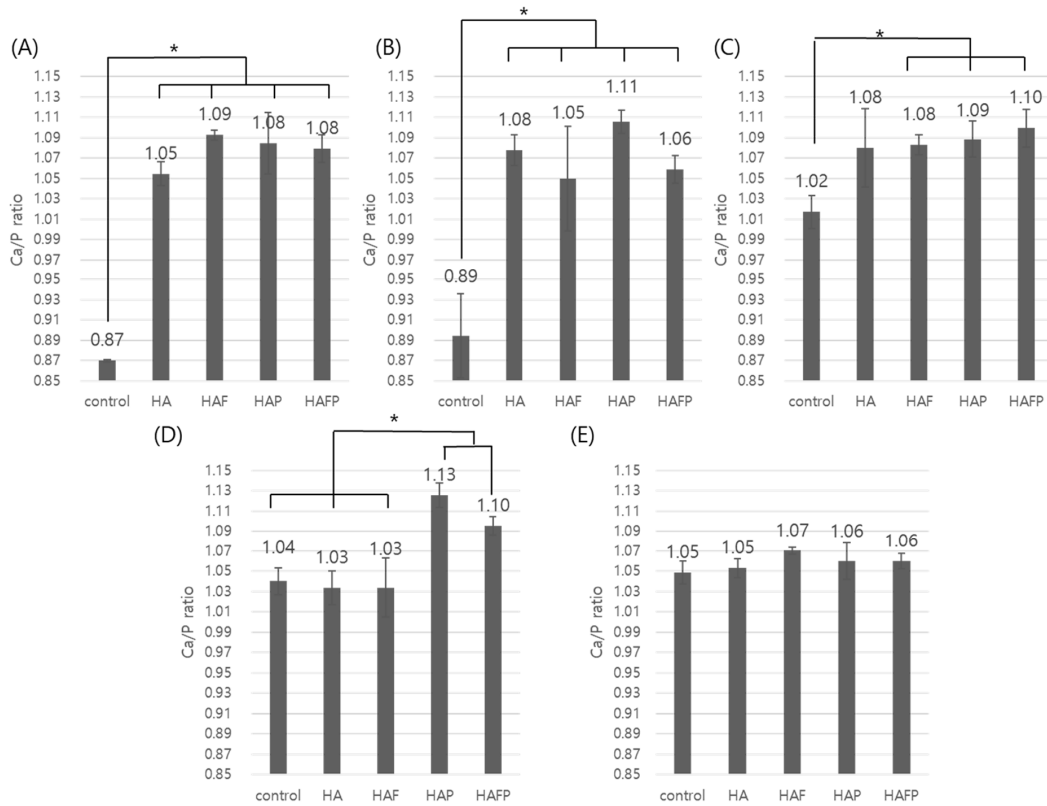


Fig. 5. The Ca/P ratio through line scan of EDS until 4 weeks when the treatment was done twice. (A) The Ca/P ratio immediately after the treatment was done twice. (B) The Ca/P ratio in 1 week after treatment was done twice. (C) The Ca/P ratio in 2 weeks after treatment was done twice. (D) The Ca/P ratio in 3 weeks after treatment was done twice. (E) The Ca/P ratio in 4 weeks after treatment was done twice.

의하게 높았다($p < 0.05$) (Fig. 4A). 2회 도포 직후에 HA군은 1.05, HAF군은 1.09, HAP군은 1.08, HAFF군은 1.08이었다. 대조군과 비교하였을 때 HA, HAF, HAP, HAFF군의 결과값은 유의하게 높았다($p < 0.05$) (Fig. 5A). 3회 도포 직후에 HA군은 1.02, HAF군은 1.07, HAP군은 1.07, HAFF군은 1.10이었다. 대조군과 비교하여 HA, HAF, HAP, HAFF군의 결과값은 유의하게 높았으며($p < 0.05$) HAF, HAP, HAFF군 결과값은 HA군의 결과값과 비교하여 유의하게 높았다($p < 0.05$) (Fig. 6A). 4회 도포 직후에 HA군은 1.03, HAF군은 1.1, HAP군은 1.1, HAFF군은 1.09였다. 대조군과 비교하였을 때 HA, HAF, HAP, HAFF군의 결과값은 유의하게 높았으며($p < 0.05$) HAF, HAP, HAFF군의 결과값은 HA군의 결과값과 비교하여 유의하게 높았다($p < 0.05$) (Fig. 7A).

1회 도포 후 4주간의 Ca/P ratio를 분석한 결과, 1주차에 HA군은 0.97, HAF군은 0.99, HAP군은 0.98, HAFF군은 0.97이었다(Fig. 4B). 2주차에서 HA군은 1.02, HAF군은 1.00, HAP군은 1.04, HAFF군은 1.01이었다(Fig. 4C). 3주차에서 HA군은 1.04, HAF군은 1.00, HAP군은 1.04, HAFF군은 1.01이었다(Fig. 4D). 4주차에서 HA군은 1.04, HAF

군은 1.04, HAP군은 1.02, HAFF군은 1.04이었다(Fig. 4E). 4주간의 비교에서 각 군별 유의한 차이는 없었다.

2회 도포 후 4주간의 Ca/P ratio를 분석한 결과, 1주차에 HA군은 1.08, HAF군은 1.05, HAP군은 1.11, HAFF군은 1.06이었다. HA, HAF, HAP, HAFF군의 결과값은 대조군의 결과값과 비교해서 유의하게 높았다($p < 0.05$) (Fig. 5B). 2주차에서 HA군은 1.08, HAF군은 1.08, HAP군은 1.09, HAFF군은 1.10이었다. HAF, HAP, HAFF군의 결과값은 대조군과 비교해서 유의하게 높았다($p < 0.05$) (Fig. 5C). 3주차에서 HA군은 1.03, HAF군 1.03, HAP군은 1.13, HAFF군은 1.10이었다. HAP, HAFF군의 결과값은 대조군과 HA, HAF군과 비교하여 유의했다($p < 0.05$) (Fig. 5D). 4주차에서 HA군은 1.05, HAF군은 1.07, HAP군은 1.06, HAFF군은 1.06이었으며 각 군별 유의한 차이는 없었다(Fig. 5E).

3회 도포 후 4주간의 Ca/P ratio를 분석한 결과, 1주차에 HA군은 0.99, HAF군은 1.10, HAP군은 1.08, HAFF군은 1.06이었다. HA, HAF, HAP, HAFF군의 결과값은 대조군과 비교하여 유의하게 높았으며($p < 0.05$) HAF, HAP, HAFF군의 결과값은 HA군과 비교하여 유의하게 높았다($p < 0.05$) (Fig. 6B). 2주차에서 HA군은 1.08, HAF군은

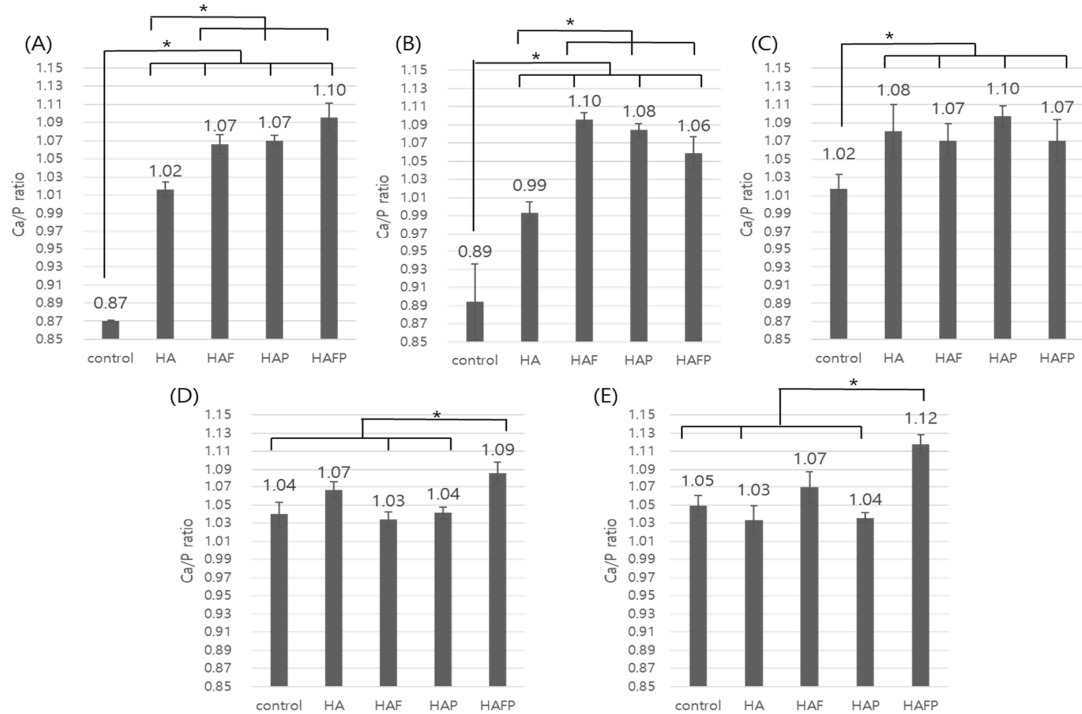


Fig. 6. The Ca/P ratio through line scan of EDS until 4 weeks when the treatment was done three times. (A) The Ca/P ratio immediately after the treatment was done three times. (B) The Ca/P ratio in 1 week after treatment was done three times. (C) The Ca/P ratio in 2 weeks after treatment was done three times. (D) The Ca/P ratio in 3 weeks after treatment was done three times. (E) The Ca/P ratio in 4 weeks after treatment was done three times.

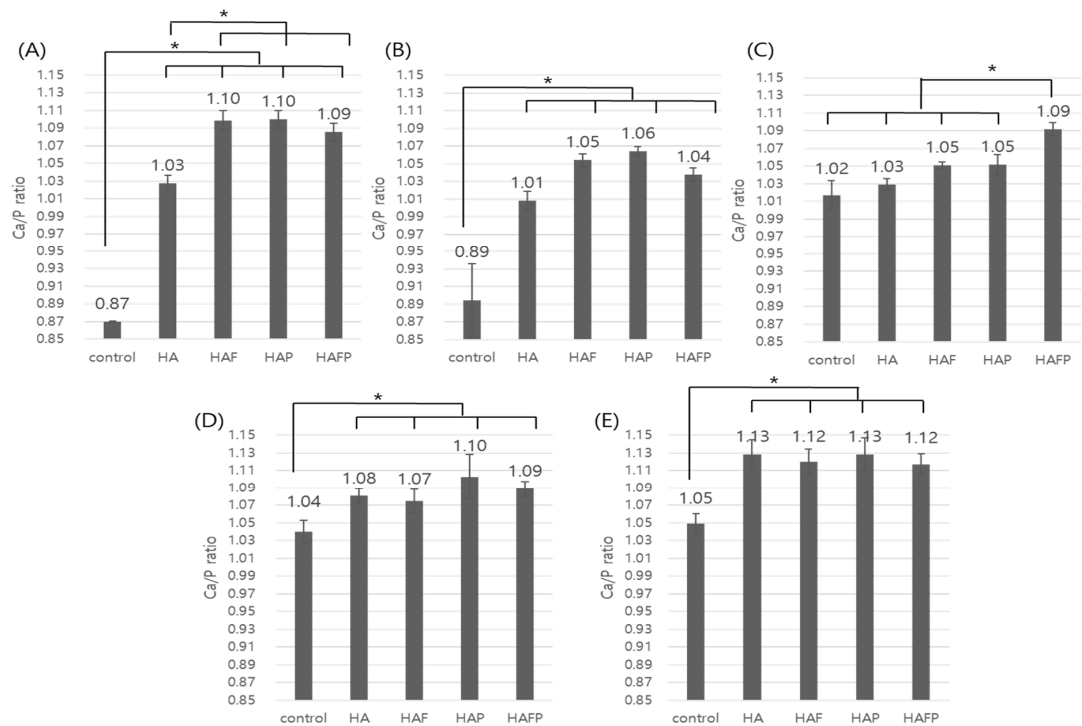


Fig. 7. The Ca/P ratio through line scan of EDS until 4 weeks when the treatment was done four times. (A) The Ca/P ratio immediately after the treatment was done four times. (B) The Ca/P ratio in 1 week after treatment was done four times. (C) The Ca/P ratio in 2 weeks after treatment was done four times. (D) The Ca/P ratio in 3 weeks after treatment was done four times. (E) The Ca/P ratio in 4 weeks after treatment was done four times.

1.07, HAP군은 1.10, HAFP군은 1.07이었다. HA, HAF, HAP, HAFP군의 결과값은 대조군과 비교하여 유의하게 높았다($p < 0.05$) (Fig. 6C). 3주차에서 HA군은 1.07, HAF군은 1.03, HAP군은 1.04, HAFP군은 1.09이었다. HAFP군의 결과값은 대조군과 HAF, HAP군의 결과값과 비교하여 유의하게 높았다 ($p < 0.05$) (Fig. 6D). 4주차에서 HA군은 1.03, HAF군은 1.07, HAP군은 1.04, HAFP군은 1.12이었다. HAFP군의 결과값은 대조군과 HA, HAF군의 결과값과 비교하여 유의하게 높았다($p < 0.05$) (Fig. 6E).

4회 도포 후 4주간의 Ca/P ratio를 분석한 결과, 1주차에 HA군은 1.01, HAF군은 1.05, HAP군은 1.06, HAFP군은 1.04이었다. 실험군 전체의 결과값은 대조군의 결과값과 비교하여 유의하게 높았다($p < 0.05$) (Fig. 7B). 2주차에서 HA군은 1.03, HAF군은 1.05, HAP군은 1.05, HAFP군은 1.09이었다. HAFP군의 결과값은 대조군과 HA, HAF, HAP군의 결과값과 비교하여 유의하게 높았다($p < 0.05$) (Fig. 7C). 3주차에서 HA군은 1.08, HAF군은 1.07, HAP군은 1.10, HAFP군은 1.09이었다. 모든 실험군의 결과값은 대조군과 비교하여 유의하게 높았다 ($p < 0.05$) (Fig. 7D). 4주차에서 HA군은 1.13, HAF군은 1.12, HAP군은 1.13, HAFP군은 1.12이었다. 모든 실험군의 결과값은 대조군의 결과값과 비교하여 유의하게 높았다($p < 0.05$) (Fig. 7E).

고찰

불화나트륨은 국소적인 불소도포를 위한 불소용액과 불소 바니쉬, 불소세치제, 불소양치용액 등에 널리 사용되고 있는 물질이다. 국소도포를 위해 고운 분말 형태의 불화소다를 물에 희석하여 일반적으로 2% 농도로 사용하며 자극이 적으므로 어린이에게 사용하기 좋고 일정한 주기로 반복 도포하는 것이 좋다. 또한, 불화나트륨은 용액 자체로만 사용하는 경우 그 결합효과가 낮으므로 치아 내 결합효과를 높이기 위하여 불소이온도입법을 사용해야 더욱 효과적이라고 알려져 있다[17]. 하지만 불소이온도포법은 신체에 약한 전류를 흘려보내기 위한 장비가 추가로 필요하고 트레이를 일정시간동안 구강 내에 위치시키는 수고가 필요하므로 협조도가 좋지 않은 어린이에게 적용하기에는 한계가 있으며 불소의 반복도포 또한 어렵다.

이러한 한계를 극복하고 불화나트륨을 치아에 효과적으로 적용하기 위해 개발된 것이 불소 바니쉬이다. 불소 바니쉬는 5% 불화나트륨에 천연레진을 혼합한 불소 제제로 천연레진의 점성으로 장시간 치면에 부착되어 불소를 유리하게 된다. 이번 연구에서는 불소제제로 불화나트륨을 사용하였으며 불소 바니쉬와 비슷한 치면 적용 효과를

위해 carboxymethyl cellulose(CMC)를 사용하였다.

Carboxymethyl cellulose(CMC)는 글루코피라노오스 단량체의 수산기와 결합한 카복시메틸기의 셀룰로오스 유도체이다[18]. CMC는 점성이 높고, 무독성이며, 알레르기를 일으키지 않는 물질이다[19]. 본 연구에서는 인체에 안정적이며 높은 점성을 통해 불소를 계속하여 방출할 수 있는 중성의 불소 제제를 만들기 위해 CMC와 불화나트륨 용액을 섞어 5% F-CMC 젤을 만들어 사용하였다.

플라즈마를 이용한 불소 도포나 상아질 지각과민증 치료에 관한 연구는 거의 없으나, 플라즈마는 다양한 의생명 분야에서 연구되고 있다. 플라즈마는 세포 부착과 연관된 단백질을 불활성화시킴으로써 세포자멸사를 유도한다[20]. 또한 플라즈마는 살균, 멸균 부분에 가장 많은 연구가 이루어졌다. 이뿐 아니라 상처치유, 혈액 응고, 피부 미용 등 다양한 분야에서 연구가 되고 있다. 치의학 분야에서는 플라즈마가 과산화수소를 이용하여 OH기를 다량으로 만듦으로써 치아 미백을 효과적으로 수행한다고 보고되고 있다[21].

상아질 지각과민증을 해결하기 위한 방법에는 자극을 가하여 삼차상아질 형성을 유도하거나 도말층 형성이나 약제사용으로 상아세관을 폐쇄하는 방법 등이 있다. 상아세관 폐쇄를 위해 많은 제제가 사용되고 있는데 불소는 법랑질의 격자 구조에 불화인회석을 형성하는 재광화 물질로 침전에 의해 상아세관을 막는다[22, 23]. Bioactive glass는 오래전부터 골형성에 사용된 생체친화적 물질이지만, 최근 치과에서는 뼈와 상아질 사이의 유사성 때문에 이용되고 있다[24]. 수산화인회석은 치아를 구성하는 대표적인 성분으로 법랑질의 96-97%, 상아질의 70% 정도를 이루고 있으며 많은 연구에서 상아세관 폐쇄에 있어 bioactive glass보다 효과가 높다고 하였다[4, 5].

특히 상아질 지각과민증을 보이는 경우 상아세관의 직경은 0.9 μm 로 알려져 있으므로[25], 이론적으로 효과적인 상아세관의 폐쇄를 위해서는 이 직경보다 작은 크기의 수산화인회석을 사용하는 것이 필요하다. 최근 나노 기술의 발달로 기존의 마이크로 크기의 수산화인회석보다 나노 크기의 수산화인회석은 미세한 입자 크기를 가지게 되므로 표면적이 증가되어 상아세관을 폐쇄하는데 더 효과적이다. 또한 넓은 표면적을 통해 더 많은 양의 칼슘과 인이 발생하고 다양한 부착 성질로 인해 이온 교환을 기대할 수 있다고 알려져 있다[26]. 이러한 이유로 이번 연구에서 20nm의 수산화인회석을 사용하였으며 안정적인 도포를 위해 CMC를 이용한 slurry를 만들었다.

본 연구에서는 EDS를 장착한 FE-SEM을 이용하여 line을 지정하여 칼슘-인 비율을 구했다. 탈회 후 인공타액에 만든 대조군의 칼슘-인 비율이 시간이 지날수록 증가하는

것은 타액의 영향이 있는 것으로 보인다. 타액에는 칼슘과 인이 풍부하므로 수산화인회석의 크기가 커지는 것에 관여하기 때문이다[27]. Line scan 결과를 전체적으로 판단하면, 수산화인회석의 적용횟수에 관계없이 모든 실험군에서 적용 직후 대조군보다 높은 칼슘-인 비율을 보였다. 1회만 적용한 경우는 1주후부터 그 유지력에서 대조군과 유의한 차이를 보이지 않았지만 적용횟수가 늘어날수록 모든 실험군이 대조군과 유의한 차이를 보이는 기간이 늘어나는 경향을 보였다. 이를 통해 불소도포와 마찬가지로 상아세관 폐쇄효과의 지속을 위해서는 반복적인 적용이 필요함을 알 수 있다. 또한 수산화인회석의 단독 적용보다는 불소나 플라즈마를 병용한 HAF, HAP, HAFP군의 칼슘-인 비율이 유의하게 높게 유지되는 경우가 있었으며 불소와 플라즈마를 모두 병용한 HAFP군의 경우 다른 군들에 비해 유의한 값을 나타내는 경우가 많았다.

위 결과에서 보듯이 상아세관을 노출시킨 상아질 시편에 수산화인회석을 적용하였을 때 칼슘-인 비율을 증가시켰으며 이는 수산화인회석의 상아세관 폐쇄효과를 보여주는 것이다. 또한 반복해서 적용할수록 그 유지기간은 길어진다는 것을 알 수 있으며 전체적으로 수산화인회석을 단독으로 적용한 경우보다 불소나 플라즈마를 병용한 HAF, HAP, HAFP군의 유지가 더 우수함을 보여주었다. 특히, 플라즈마와 불소를 함께 사용한 HAFP군은 더 높은 칼슘-인 비율을 나타내었다. 이는 플라즈마의 OH 활성종이 상아질에 작용하여 치아의 소수성을 친수성으로 바꿔주는 역할을 했기 때문인 것으로 유추할 수 있으며 앞으로 정확한 메커니즘에 대한 연구가 더 필요할 것으로 생각된다.

본 연구에서는 저온의 상압 플라즈마와 F-CMC 젤과 나노 사이즈의 수산화인회석 입자를 이용하여 상아세관 폐쇄력과 칼슘-인 비율을 분석하여 그 효과에 대해 증명하였다. 이러한 결과를 통해, 이 연구는 저온 상압 플라즈마를 이용한 F-CMC 젤과 나노 사이즈의 수산화인회석의 적용이 지각과민증 치료에 있어 새로운 대안이 될 수 있을 것이라고 제안한다.

Acknowledgments

본 연구는 부산대학교 2년 연구과제에 의해 수행되었습니다.

Conflict of Interest

The authors declare no conflict of interest.

References

1. Addy M. Tooth brushing, tooth wear and dentine hypersensitivity: are they associated? *Int Dent J.* 2005;55: 261-267.
2. Brannstrom MA. A hydrodynamic mechanism in the transmission of pain producing stimuli through dentine. London: Pergamon Press; 1963.
3. Hannig M, Hannig C. Nanomaterials in preventive dentistry. *Nat Nanotechnol.* 2010;5:565-569. doi:10.1038/nano.2010.83.
4. Yuan P, Shen X, Liu J, Hou Y, Zhu M, Huang J, Xu P. Effects of dentifrice containing hydroxyapatite on dentinal tubule occlusion and aqueous hexavalent chromium cations sorption: a preliminary study. *PLoS One.* 2012;7:e45283. doi:10.1371/journal.pone.0045283.
5. Hornby K, Evans M, Long M, Joiner AB, Laucello M, Salvaderi A. Enamel benefits of a new hydroxyapatite containing fluoride toothpaste. *Int Dent J.* 2009;59:325-331. doi:https://doi.org/10.1002/idj.2009.59.6s1.325.
6. Adair SM. Evidence-based use of fluoride in contemporary pediatric dental practice. *Pediatr Dent.* 2006;28:133-142.
7. Bea IH, Kim JM, Jeong TS, Kim S. Fluoride release and recharge of glass ionomer cements. *J Korean Acad Pediatr Dent.* 2005;32:136-143.
8. Eronat C, Eronat N, Alpöz AR. Fluoride uptake by enamel in vitro following application of various topical fluoride preparations. *J Clin Pediatr Dent.* 1993;17:227-230.
9. Kohli K, Houpt M, Shey Z. Fluoride uptake by proximal surfaces from professionally applied fluorides: an in vitro study. *ASDC J Dent Child.* 1997;64:28-31.
10. Yaffe A, Zalkind M. The effect of topical application of fluoride on composite resin restoration. *J Prosthet Dent.* 1981;45:59-62.
11. Choi WH, Kim EJ, Kim HJ, Kim JY, Nam SH. The effect of 1.23% APF gel on the esthetic restorative materials. *J Korean Acad Pediatr Dent.* 2006;33:281-289.
12. Park SR, Hong JW, Lee HJ, Kim GC. Plasma medicine; how can nonthermal atmospheric plasma be applied to medicine? *J Life Sci.* 2013;23:838-846.
13. Sladek REJ, Filoche SK, Sissons CH, Stoffels E. Treatment of *Streptococcus mutans* biofilms with a nonthermal atmospheric plasma. *Lett Appl Microbiol.* 2007;45:318-323.
14. Nastuta AV, Topala I, Grigoras C, Pohoata V, Popa G. Stimulation of wound healing by helium atmospheric pressure plasma treatment. *J Phys D: Appl Phys.* 2011; 44: 105204. doi:https://doi.org/10.1088/0022-3727/44/10/105204.
15. Lee HW, Kim GJ, Kim JM, Park JK, Lee JK, Kim GC. Tooth bleaching with nonthermal atmospheric pressure plasma. *J Endod.* 2009;35:587-591. doi:10.1016/j.joen.2009.01.008.
16. Iza F, Lee JK, Kong MG. Electron kinetics in radio-frequency atmospheric-pressure microplasmas. *Phys Rev Lett.* 2007; 99:075004.
17. Wilson JM, Fry BW, Walton RE, Ganggarosa LP Sr. Fluoride

- level in dentin after iontophoresis of 2% NaF. *J Dent Res.* 1984;63:897-900.
18. Perioli L, Ambrogi V, Venezia L, Biovagnoli S, Pagano C, Rossi C. Formulation studies of benzydamine mucoadhesive formulations for vaginal administration. *Drug Dev Ind Pharm.* 2009;31:1-11. doi:10.1080/03639040802592435.
 19. Gaisford S, Beezer AE, Bishop AH, Walker M, Parsons D. An in vitro method for the quantitative determination of the antimicrobial efficacy of silver-containing wound dressing. *Int J Pharm.* 2009;366:261-267. doi:10.1016/j.ijpharm.2008.09.005.
 20. Lee HJ, Shon CH, Kim YS, Kim S, Kim GC, Kong MG. Degradation of adhesion molecules of G361 melanoma cells by a non-thermal atmospheric pressure microplasma. *New J Phys.* 2009;11:115026. doi:https://doi.org/10.1088/1367-2630/11/11/115026.
 21. Lim MY, Lum SO, Pho RS, Lee GP, Lim KC. An in vitro comparison of bleaching efficacy of 35% carbamide peroxide with established intracoronal bleaching agents. *Int Endod J.* 2004;37:483-488.
 22. Lata S, Varghese NO, Varughese MJ. Remineralization potential of fluoride and amorphous calcium phosphate-casein phospho peptide on enamel lesions: an in vitro comparative evaluation. *J Conserv Dent.* 2010;13:42-46. doi:10.4103/0972-0707.62634.
 23. Furseth R. A study of experimentally exposed and fluoride treated dental cementum in pigs. *Acta Odontol Scand.* 1970;28:833-850.
 24. Farooq I, Imran Z, Farooq U, Leghari A, Ali H. Bioactive glass: a material for the future. *World J Dent.* 2012;3:199-201. doi:10.5005/jp-journals-10015-1156.
 25. Abis EG, Addy M, Adams D. Dentin hypersensitivity: a study of the patency of dentin tubules in sensitive and non-sensitive cervical dentin. *J Clin Periodontol.* 1987;14:280-284.
 26. Xu HH, Weir MD, Sun L. Noncomposites with Ca and PO₄ release: effects of reinforcement, dicalcium phosphate particle size and silanization. *Dent Mater.* 2007;23:1482-1491.
 27. Suge T, Ishikawa K, Kawasaki A, Suzuki K, Matsuo T, Noiri Y, Imazato S, Ebisu S. Calcium phosphate precipitation method for the treatment of dentin hypersensitivity. *Am J Dent.* 2002;15:220-226.