

산 완충용액의 pH 및 유산의 농도가 인공치근우식의 형성에 미치는 영향

오현석 · 노병덕 · 이찬영*

연세대학교 치과대학 치과보존학교실

ABSTRACT

THE INFLUENCE OF pH AND LACTIC ACID CONCENTRATION ON THE FORMATION OF ARTIFICIAL ROOT CARIES IN ACID BUFFER SOLUTION

Hyun-Suk Oh, Byoung-Duck Roh, Chan-Young Lee*

Department of Conservative Dentistry, College of Dentistry, Yonsei University

The purpose of this study is to compare and to evaluate the effect of pH and lactic acid concentration on the progression of artificial root caries lesion using polarizing microscope, and to evaluate the morphological changes of hydroxyapatite crystals of the demineralized area and to investigate the process of demineralization using scanning electron microscope.

Artificial root caries lesion was created by dividing specimens into 3 pH groups (pH 4.3, 5.0, 5.5), and each pH group was divided into 3 lactic acid concentration groups (25 mM, 50 mM, 100 mM). Each group was immersed in acid buffer solution for 5 days and examined. The results were as follows:

1. Under polarized microscope, the depth of lesion was more effected by the lactic acid concentration rather than the pH.
2. Under scanning electron microscope, dissolution of hydroxyapatite crystals were increased as the lactic acid concentration increased and the pH decreased.
3. Demineralized hydroxyapatite crystals showed peripheral dissolution and decreased size and number within cluster of hydroxyapatite crystals and widening of intercluster and intercrystal spaces as the pH decreased and the lactic acid concentration increased.
4. Under scanning electron microscope evaluation of the surface zone, clusters of hydroxyapatite crystals were dissolved, and dissolution and reattachment of crystals on the surface of collagen fibrils were observed as the lactic acid concentration increased.
5. Under scanning electron microscope, demineralization of dentin occurred not only independently but also with remineralization simultaneously.

In conclusion, the study showed that pH and lactic acid concentration influenced the rate of progression of the lesion in artificial root caries. Demineralization process was progressed from the surface of the cluster of hydroxyapatite crystals and the morphology of hydroxyapatite crystals changed from round or elliptical shape into irregular shape as time elapsed. [J Kor Acad Cons Dent 32(1):47-60, 2007]

Key words: Root caries, Acid buffer solution, pH, Lactic acid concentration, Demineralization, Hydroxyapatite, Scanning electron microscope

* Corresponding Author: **Chan-Young Lee**

Department of Conservative Dentistry,
College of Dentistry, Yonsei University
134 Shinchon-Dong, Seodaemun-Ku, Seoul, Korea, 120-752
Tel: 82-2-2228-8700 Fax: 82-2-313-7575
E-mail: chanyoungl@yumc.yonsei.ac.kr

- Received 2006.10.26., revised 2006.12.4.,
accepted 2007.1.9. -

I. 서 론

치아 우식증은 선진국에 반해 우리나라에서 발생 빈도가 오히려 증가 추세에 있는 만성 구강 경조직 질환으로 이를 예방하기 위한 많은 연구가 진행되어 왔지만 아직도 소아 및 성인 치과질환의 대부분을 차지하고 있다. 일반적으로 치아 우식증은 유소년기에 호발하지만, 사회 경제적 발전과 인구의 고령화로 인해 치은이 퇴축되고 치조골이 소실되며 치근이 노출되면서 치근 우식증이 증가추세에 있다.

치근 우식증은 치근 표면이 구강 환경에 노출되어야만 나타나는 질환으로 Darby 등¹⁾에 의해 이미 1884년에 치근 우식증이 치관부 우식증과 독립된 질병으로 보고되기 시작하였으나 치근 우식증에 관심을 갖기 시작한 것은 최근의 일이다.

치근 우식증은 복합적인 요인에 의해 발생하는 질환으로 다음과 같은 요소에 의해 영향을 미칠 것으로 보인다. 첫째, 많은 사람들이 치아를 더 오래 보존할 수 있게 되었고, 둘째, 인구의 고령화가 지속되고 있으며, 셋째, 고령에 따른 식습관, 구강내 치태세균, 구강 건조증에 의한 타액 분비의 감소 등이 치근 우식증 발생을 증가시키게 되었다.

Katz 등^{2,3)}은 30대에서는 100개 치아 중 1개 정도가 치은퇴축 및 치근 우식증이 나타나고 60대 초반에는 5개 중 1개, 72세에는 52%정도가 치근 우식증을 나타낸다고 보고하였고 그 중에서 하악 구치에서 가장 많이 나타났고 하악 전치에서 가장 적게 나타났다고 보고하였다. 또한 Beck 등⁴⁾은 60세까지의 인구 중 1/3이 치근 우식을 경험하였다고 보고하였다.

치근 우식증은 치관 우식증과는 여러 측면에서 다른 양상을 나타내고 있다. 가장 중요한 차이로는 영향 받는 조직의 구조가 다르다는 점이다. 법랑질은 상아질 및 백악질에 비해 무기질의 함량이 높다. 낮은 무기질 함량 및 높은 백악질-상아질 복합체의 유기질 함량 때문에 치근 우식은 산에 의한 탈회 및 유기질의 proteolytic breakdown에 의해 진행될 수 있다. 이와 같은 구조적 차이로 인하여 병소 형성시간, 조직학적 형태, 재광화의 가능성 및 시간의 차이를 나타내고 있다. 이처럼 치근면은 독특한 구조와 화학적 조성 때문에 법랑질에 비해 기계적, 화학적 손상에 대해 더 취약하기 때문에 최근 들어 치근 우식증에 대한 관심이 점차 증가하기 시작하였다.

치아의 무기질은 주로 수산화인회석(hydroxyapatite)결정으로 이루어져 있는데 우식이 발생할 경우 이 입자의 변화가 나타나게 된다. Tohda 등⁵⁾은 투과전자현미경을 이용한 연구에서 진행된 법랑질 우식에서 예상과는 달리 수산화인회석 결정의 중심부가 용해되는 양상이 명확하게 나타나지 않았고 백악질과 상아질에서는 거의 나타나지 않았다고 보고하였다. 그러나 Hayashi 등⁶⁾은 고해상도 투과전자현

미경을 이용한 연구에서 우식 발생 시 입자의 변연부가 소실되고 동시에 수산화인회석 입자의 중앙에서 용해가 일어나 중앙부 천공이 일어나게 된다고 주장하였다. Holmen 등⁷⁾은 인공 우식병소의 초기에 수산화인회석 결정에 부분적인 용해가 일어나고 그 결과 입자 사이의 공간이 증가하며 이 공간을 통해 무기질 이온이 이동할 수 있다고 보고하였다.

이처럼 여러 저자들에 의해 치근 우식증에 대한 정의 및 분류 방법들이 제시되었지만 병소 깊이, 상아질 탈회의 정도 및 양상, 콜라겐 섬유의 파괴 정도 및 수산화인회석 결정 변화에 대한 조직학적 연구가 미비한 실정이다. 이에 저자는 산 완충용액의 pH와 유산의 농도가 치근 상아질 우식의 진행에 미치는 영향을 편광현미경으로 관찰하고 관찰된 우식 병소층의 수산화인회석 결정 형태 변화를 주사전자현미경으로 관찰하여 탈회 과정을 살펴보고자 한다.

II. 실험방법

1. 실험재료 및 시편제작

교정목적으로 발치한지 30일 이내의 소구치를 선택하여 치근에 부착된 치주조직과 백악질을 periodontal curette으로 제거하고 불소가 포함되지 않은 pumice로 치근면을 연마한 후 초음파 세척기에서 10분간 세정하고 다시 증류수로 세척, 건조하였다.

1) 편광현미경 관찰을 위한 시편제작

건조된 치아는 5cc 주사기를 이용하여 높이 2 cm, 직경 1 cm의 원통을 만들고 치과용 아크릴 레진을 이용하여 치관 부위만 매몰하고 경화 후 low speed diamond wheel saw(Minitom, Struers, Denmark)를 이용하여 치아 장축에 수직되게 400 - 500 μ m의 절편을 만든 다음 #800 사포를 이용하여 150 μ m 두께로 연마하였다. 연마된 시편은 입체현미경(OSM-1, 동원정밀, 한국) 하에서 협설면이나 근원심쪽의 손상이나 균열이 없는 부위 중 3 mm 정도의 window를 제외한 나머지 부위는 내산성의 nail varnish를 도포하고 연마된 면에는 탈회 완충용액과의 접촉을 차단하기 위하여 bonding agent (Scotchbond™ Multi-purpose, 3M Dental Products, U.S.A.)를 도포한 후 질소가스 하에서 광중합기를 이용하여 중합하였다.

2) 주사전자현미경 관찰을 위한 시편제작

편광현미경 관찰을 위한 시편 제작 후 남은 치근 가운데 협설측 부위에 손상이나 균열이 없는 가로 5 mm, 세로 10 mm 정도의 window를 형성하고 나머지 부위는 내산성의 nail varnish를 도포하였다.

Table 1. The composition of initial demineralization solution of group pH 4.3

pH	4.3	4.3	4.3
Lactic acid (mM)	25	50	100
Ca ²⁺ (mM)	13.00	12.50	15.30
PO ₄ ³⁻ (mM)	4.20	6.80	9.00
Sodium azide (mM)	3.08	3.08	3.08
Degree of saturation	0.15475	0.15493	0.15446

Table 3. The composition of initial demineralization solution of group pH 5.5

pH	5.5	5.5	5.5
Lactic acid (mM)	25	50	100
Ca ²⁺ (mM)	1.00	1.27	1.80
PO ₄ ³⁻ (mM)	0.40	0.50	0.60
Sodium azide (mM)	3.08	3.08	3.08
Degree of saturation	0.15408	0.15422	0.15402

2. Stock 용액의 제조

30% 유산용액 (Sigma Co., 분자량 90.08, 밀도 1.080)을 이용하여 1 M의 유산용액을 제조한 후 적정하여 1.03 M임을 확인하였다. 염화칼슘분말 (Sigma Co., 분자량 111.0)을 이용하여 0.3 M의 용액을 제조하였고 인산칼륨분말 (Sigma Co., 분자량 136.1)을 이용하여 0.9 M의 용액을 제조하였으며 각각의 용액을 Ion chromatography (790 Personal Ion Chromatography, Metrohm, Switzerland)로 분석하여 0.295 M, 0.930 M임을 확인하였다.

3. 탈회 완충용액의 제조

실험군으로 3개의 pH군 (pH 4.3, 5.0, 5.5)으로 나누고 각 pH군은 3개의 유산 농도 (25 mM, 50 mM, 100 mM) 군으로 다시 분류하였다. 각 군당 필요한 유산, 칼슘, 인의 양을 stock solution으로부터 취하고 bacteriostatic 하게 하기 위해 0.0308M sodium azide를 추가하고 pH meter (Model 920A, Orion Research Inc., U.S.A.)를 측정하여 원하는 pH가 되도록 8N KOH를 첨가하면서 조절하였고 4차 증류수를 이용하여 총 500 ml가 되게 하여 탈회 완충용액을 제조하였다 (Table 1 - 3). 제조된 각각의 용액

Table 2. The composition of initial demineralization solution of group pH 5.0

pH	5.0	5.0	5.0
Lactic acid (mM)	25	50	100
Ca ²⁺ (mM)	1.98	3.90	4.20
PO ₄ ³⁻ (mM)	1.90	1.10	2.04
Sodium azide (mM)	3.08	3.08	3.08
Degree of saturation	0.15467	0.15419	0.15439

을 Ion chromatography (790 Personal Ion Chromatography, Metrohm, Switzerland)로 정량 분석하여 시편의 initial demineralization solution으로 사용하였다.

4. 상아질 우식 병소의 형성

50 cc 플라스틱 용기에 30 cc의 탈회 완충용액을 채우고 시편을 용기의 중앙에 위치하도록 고정시킨 후 25℃ 항온조에 보관하였다.

5. 편광현미경 관찰 및 우식 병소의 깊이 측정

24시간 간격으로 각각 1일, 3일, 5일째 완충용액에서 꺼낸 시편을 증류수로 침윤시킨 상태에서 40배, 100배의 편광현미경 (I 221, 동원정밀, 한국)으로 관찰하고 변화 양상을 사진 촬영하여 표면에서부터 양성 복굴절 부위 끝까지의 수직 길이를 우식 병소 깊이로 보고 임의로 다섯 부위를 선택한 후 micrometer를 이용하여 그 깊이를 측정하였다.

6. 주사전자현미경 관찰

각 군의 대조군인 정상 상아질 시편을 제작하기 위해 치아 장축에 수직으로 osteotome과 mallet을 이용하여 치근을 파절시켰다. 이때 파절된 시편은 증류수에 24시간 담근 후 건조하여 보관하였고 나머지 치근은 다시 window만 노출되도록 nail varnish를 도포한 후 탈회 완충용액을 넣은 50cc 플라스틱 용기의 중앙에 위치시킨 후 25℃ 항온조에 보관하였다. 각각 1일, 3일, 5일후 시편을 탈회 완충용액에서 꺼내 증류수로 세척한 후 치아 장축에 수직으로 osteotome과 mallet을 이용하여 치근을 파절시켰다. 준비된 시편은 aluminium stub에 고정시킨 후 진공상태에서 도금 처리하여 주사전자현미경 (S-800, Hitachi, Japan)으로 관찰하였다.

Ⅲ. 실험결과

1. 편광현미경 관찰

1) 탈회 소견 (Figures 1 - 3)

인공적으로 형성된 상아질 우식병소의 전체적인 병소 모양은 접시모양 (saucer shape)으로 모든 시편 관찰시 대부분의 병소에서 깊이가 일정하였고 병소의 경계도 대부분 명

확하게 나타났다. 병소의 본체는 쉽게 구별이 가능하였고 뚜렷하고 균일한 경계부가 건전 상아질과 우식 상아질 사이에서 관찰되었다. 우식병소 본체는 정상 상아질에 비해 양성복굴절의 양상이 높게 나타났다. 병소 본체에서는 상아질의 구조인 상아세관의 형태를 관찰할 수 없었으며 상아세관을 따라 진행된 우식 병소 본체 하방에 띠 모양 또는 톱니바퀴 형태의 층 (zone of band)에 의해 정상 상아질과 구분되었다. 상아질 최외곽층에서는 약 5 - 10 μ m 두께의 우식 표

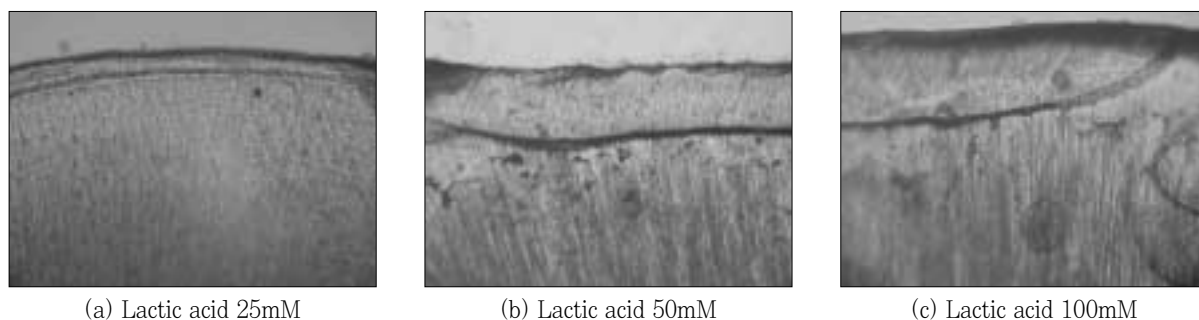


Figure 1. Polarizing microscopic view of demineralized dentin of group pH 4.3 in acid buffer solution (5 day treatment, $\times 100$, imbibed in water).

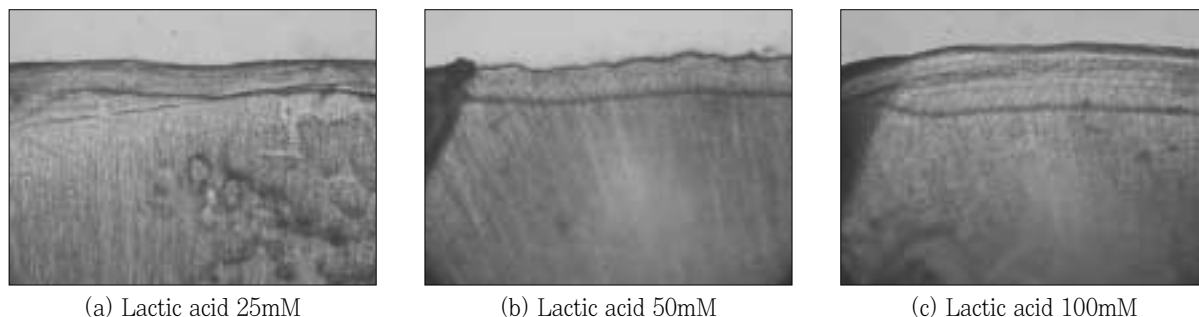


Figure 2. Polarizing microscopic view of demineralized dentin of group pH 5.0 in acid buffer solution (5 day treatment, $\times 100$, imbibed in water).

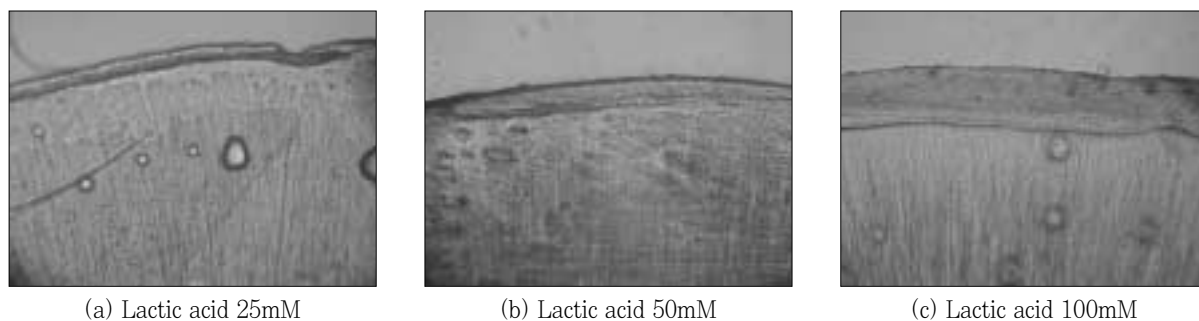


Figure 3. Polarizing microscopic view of demineralized dentin of group pH 5.5 in acid buffer solution (5 day treatment, $\times 100$, imbibed in water).

면층이 형성되었고 탈회가 진행되는 동안 모든 시편에서 cavitation의 양상은 나타나지 않았다.

병소 깊이는 초기에 급격히 진행되고 시간이 경과함에 따라 점차적으로 증가하였고 pH가 낮을수록 병소가 깊게 형성되었다. 반면 pH가 높아질수록 초기에 급격히 진행하다가 시간이 경과할수록 완만하게 증가하였다. Zone of band는 pH 4.3에서는 시간이 경과할수록 소실되는 양상을 나타내었으나 pH가 높아지면서 zone of band가 시간이 경과할수록 경계가 더 명확하게 나타났다. Zone of band에서는 상아세관의 형태가 관찰되었고 시간이 경과할수록 zone of band의 두께가 증가하는 양상을 나타내었다. 반면 시간이 경과할수록 병소 본체의 깊이는 zone of band의 두께 증가에 비해 완만하게 증가하는 양상을 나타내었다.

2) 우식 병소의 깊이 측정 (Figure 4)

탈회 완충용액의 포화도와 산의 농도를 일정하게 유지시키고 pH를 변화시켰을 때 pH가 높아질수록 병소 깊이의 진행이 늦어지는 것이 관찰되었다. pH 4.3군은 pH 5.0, 5.5군에 비해 1일 후 우식 병소의 깊이가 더 깊었고 시간이 지날수록 계속 증가하는 양상을 보였으나 pH 5.0, 5.5군에서는 초기에는 우식 병소 진행이 빨랐으나 시간이 지날수록 병소의 깊이가 점차 완만하게 증가하는 양상을 보였다. pH 4.3군에서 관찰 시 병소가 가장 깊게 형성되었으며 pH가 증가할수록 병소의 깊이는 pH 4.3군에 비해 깊지 않았다. 또한 유산 농도에 따른 병소 깊이는 이번 실험에서 산의 농도가 가장 낮은 25 mM 군에서는 pH가 높아질수록 탈회시간이 길어져도 병소 깊이가 뚜렷하게 증가되지 않았고 50 mM 군에서는 pH가 낮아질수록 탈회시간이 길어짐에 따라 병소 깊이가 현저히 증가되었다. 100 mM 군에서는 pH가

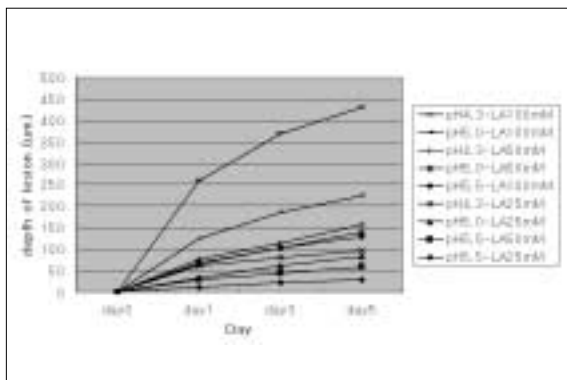


Figure 4. The effect of the pH and lactic acid concentration in buffer solution on the progression of artificial root caries (μm).

낮아질수록 첫째 날 급격히 증가되었고 탈회 시간이 증가함에 따라 지속적으로 증가하는 양상을 나타내었다. 전반적으로 완충용액에 오래 노출될수록 형성된 우식 병소의 깊이는 증가되었다.

2. 주사전자현미경 관찰

1) 정상 상아질 (Figures 7-1, 8-1)

정상 상아질에서는 상아세관 (dentinal tubule)과 관주 상아질 (peritubular dentin), 관간 상아질 (intertubular dentin)을 관찰할 수 있었다. 표면 부근에서 관찰한 관주 상아질의 경우에는 비교적 작고 크기가 고른 수산화인회석 결정이 치밀하게 배열되어 있어 공간이 전혀 없었다. 상아세관에서 분지되는 작은 관의 형태도 관찰되었다. 관간 상아질의 경우에도 결정이 치밀하게 배열되어 있으며 결정 사이의 공간은 거의 없었으나 표면에서 심부로 들어갈수록 깊이 따른 결정의 크기와 밀도 등의 차이는 관주 상아질에 비해 컸다. 전체적으로 관간 상아질에서는 수산화인회석 결정이 포도송이 같이 뭉쳐있는 듯한 양상(cluster)으로 관찰되며, 뭉쳐져 있는 조직 사이로 공간이 관찰되었다. 각각의 수산화인회석 결정의 크기는 약 20 nm 에서 40 nm 사이로 관주 상아질에서 관찰되는 수산화인회석 결정의 크기는 비교적 균일하고 평평하게 배열된 것에 비해 관간 상아질에서는 각각의 결정 크기에 차이가 있었고 불규칙적으로 배열되어 있었다.

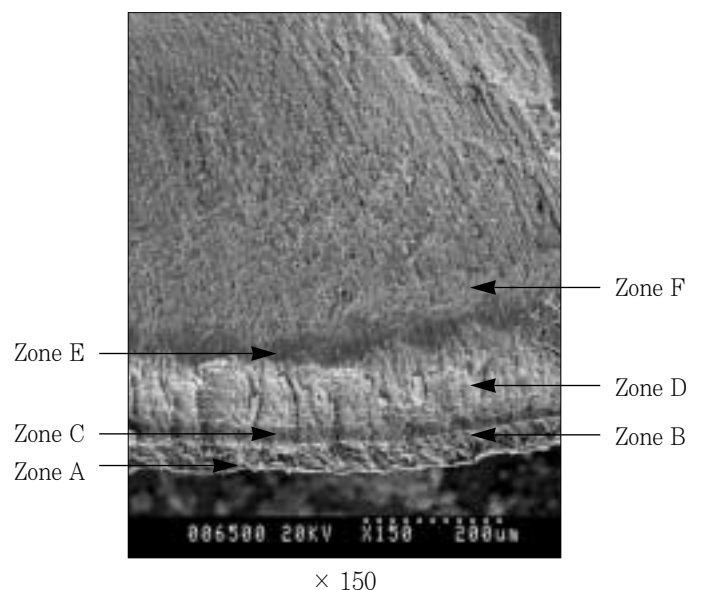
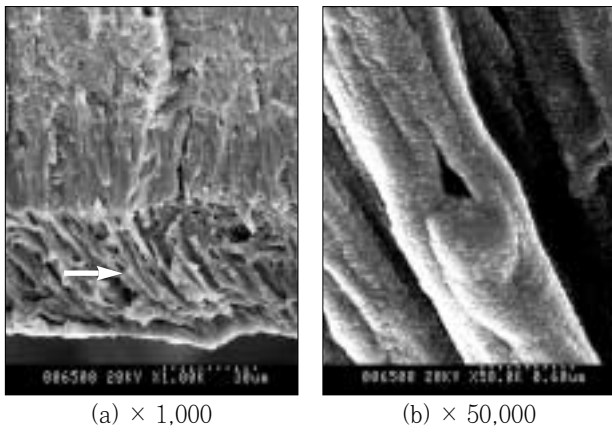
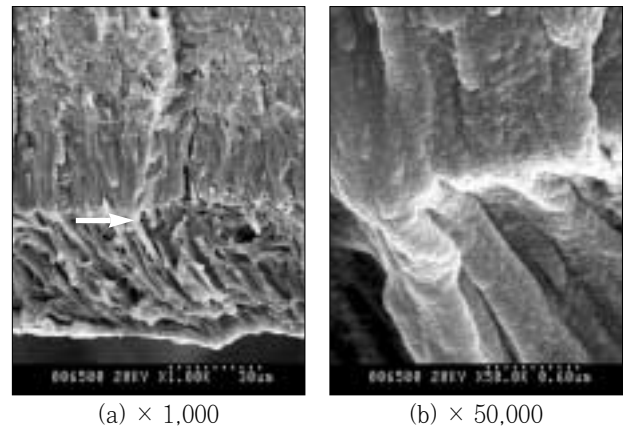


Figure 5. SEM image of demineralized pattern in root dentin (pH 4.3-Lactic acid 100mM).

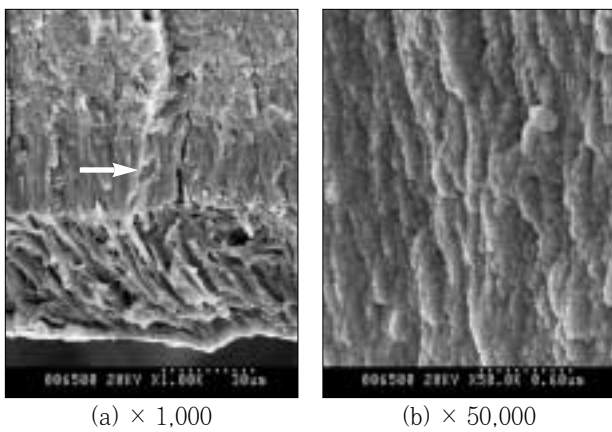
1) Zone A



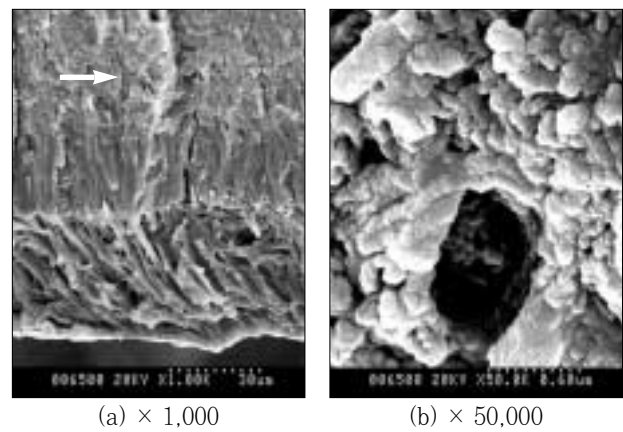
2) Zone B



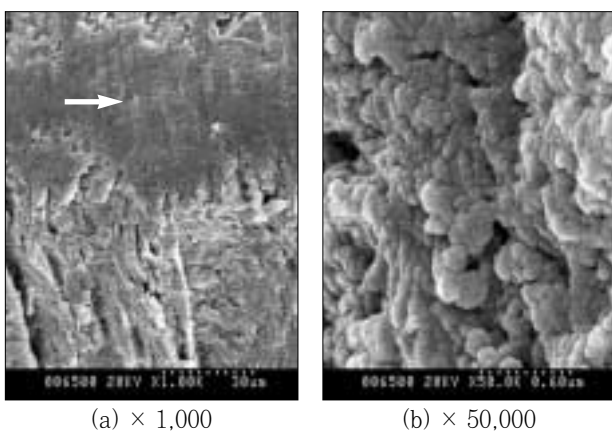
3) Zone C



4) Zone D



5) Zone E



6) Zone F

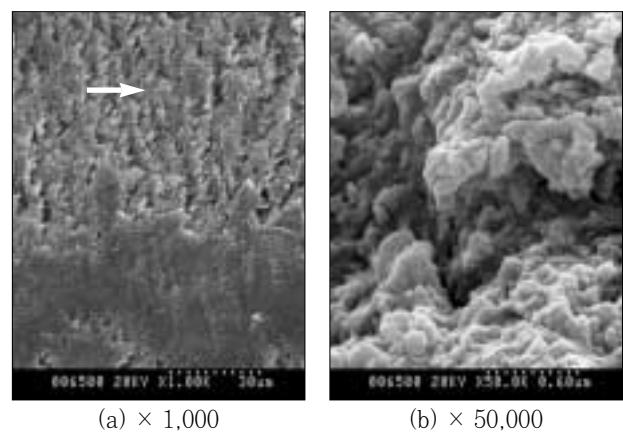


Figure 6. SEM images of demineralized dentin of pH 4.3-Lactic acid 100 mM (zone A - zone F).

2) 각 실험군의 탈회 조건

편광현미경에서 관찰된 각 pH 및 유산 농도 변화에 따라 유발된 표면층, 우식 병소본체에 대한 주사전자현미경 소견은 다음과 같다

저배율로 관찰시 뚜렷하게 층이 구별되는 것을 확인할 수 있었다 (Figure 5). 각 층은 zone A, B, C, D, E, F로 구분할 수 있었는데 zone A (Figure 6-1)는 표면층으로서 수산화인회석 결정 cluster 형태는 소실되었고 잔존하는 콜라겐 섬유가 느슨하게 배열되어 있으며 콜라겐 섬유 표면에 수산화인회석 결정이 용해되고 잔존되어 있는 양상으로 부착되어 있었다. Zone C (Figure 6-3)는 표면층 하방에 형성된 층으로 탈회된 층 하방에 재광화된 양상으로 존재하였다. 이 부위에서는 표면층에서와는 달리 치밀하게 재광화된 수산화인회석 결정이 배열되어 있었다. Zone B (Figure 6-2)는 zone A와 C 사이의 경계로서 앞서 설명한 것과 같

이 결정의 배열이 다르게 나타난 것을 볼 수 있었다. Zone D (Figure 6-4)에서는 수산화인회석 결정 cluster의 형태를 관찰할 수 있었으나 이 층의 상부에서는 관주 상아질을 발견하기 어려웠다. Zone E (Figure 6-5)는 zone D 하방에 형성된 재광화된 밴드층으로 zone D에서 나타난 것과 달리 수산화인회석 결정이 치밀하게 배열되어 있는 것을 확인할 수 있었다. Zone F (Figure 6-6)는 탈회된 상아질 하방에 존재하는 정상 상태의 상아질을 나타내고 있다.

① pH 4.3군 (Figures 5, 6, 7-4, 8-4)

유산 농도가 25 mM인 시편의 탈회 초기에는 정상적인 원형 또는 타원형 형태의 수산화인 회석 결정의 형태가 유지되는 상태였고 정상에 비해 결정 크기가 약간 감소하였으나 시간이 경과할수록 결정의 크기는 더 감소하였고 결정 cluster와 cluster 사이의 공간도 증가되었으며 결정의 형

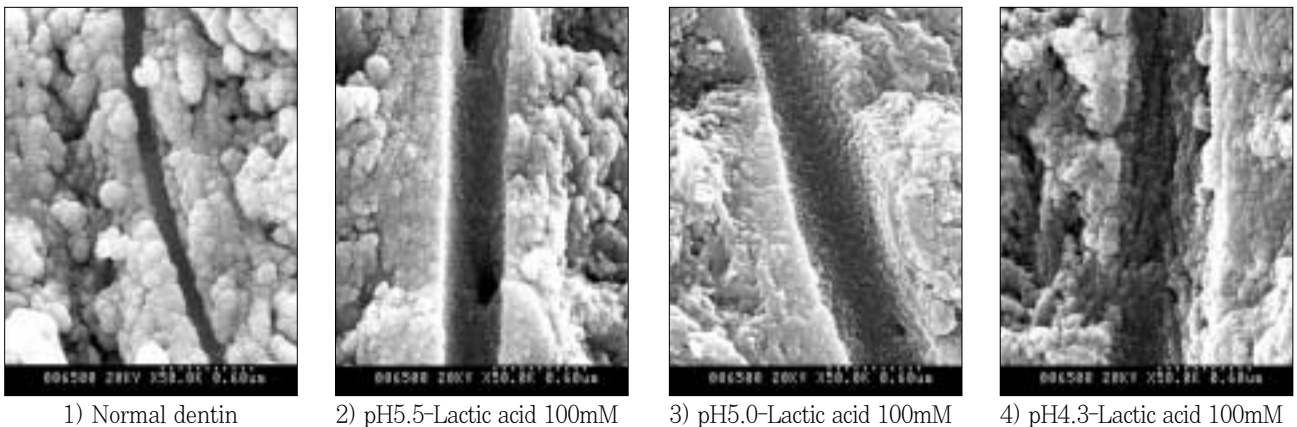


Figure 7. SEM images of demineralized dentin of peritubular dentin ($\times 50,000$).

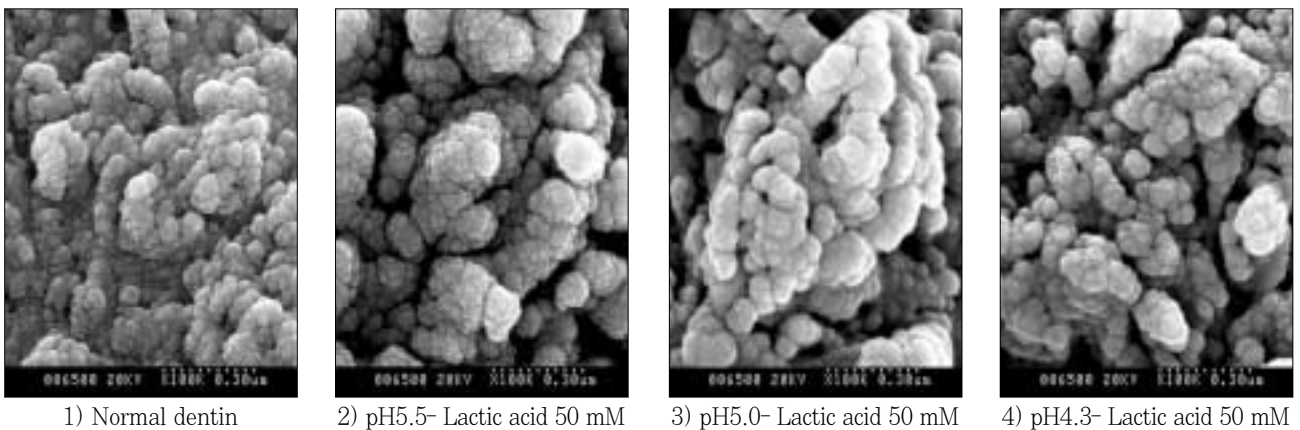


Figure 8. SEM images of demineralized dentin of intertubular dentin ($\times 100,000$).

태도 변화되었다. 50 mM의 경우 초기에는 25 mM 시편보다 결정의 숫자와 크기는 감소하고 결정 cluster 사이의 공간도 증가하였지만 정상적인 결정의 형태는 유지하였다. 시간이 경과할수록 결정 cluster 사이의 공간이 증가되고 결정의 크기도 감소되며 관주 상아질에서는 결정의 크기가 불규칙하게 변화되었다. 반면 100 mM의 1일째 시편의 경우에는 표면층에서부터 30 μm 까지는 결정은 거의 용해되고 fiber 표면에 결정의 흔적같이 남아있는 양상이 나타났다. 상아세관의 형태는 찾아보기 어려울 정도로 용해가 심하게 진행되었다. 결정의 크기는 상당히 감소하였지만 반면에 잔존 결정은 치밀하게 부착된 양상이었다. 심부로 들어갈수록 관간 상아질은 결정의 크기는 작아졌지만 뭉쳐져 있는 형태였고 관주 상아질은 크기 및 배열상태, 치밀도 등이 관간 상아질 보다는 저하된 상태였다. 5일째 시편에서는 표면층에서부터 50 μm 까지는 결정의 흔적은 거의 없어진 상태이고 표면층에서는 일부 fiber의 용해까지도 나타났다. 300 μm 까지 관주 상아질의 대부분 거의 용해되었고 관간 상아질의 크기도 감소된 상태였다.

② pH 5.0군 (Figures 7-3, 8-3)

25 mM, 50 mM 시편에서의 양상은 초기에는 pH 4.3군과 비슷하였고 치밀도도 유사하였다. 결정의 크기가 변화된 깊이도 pH 4.3군보다는 덜 진행되었다. 그러나 시간이 경과할수록 상아 세관의 형태는 유지되었으나 관주 상아질의 용해도는 증가되어 결정과 결정 사이의 공간은 증가되었고 결정의 형태가 원형 또는 타원형에서 불규칙한 형태가 많이 관찰되었다. 관간 상아질의 치밀도는 관주 상아질 보다는 덜 감소하였다. 일부 시편에서는 결정의 재광화 현상이 나타났다.

100 mM의 경우에도 초기에는 pH 4.3 시편에서 나타난 양상이 재현되었지만 앞서의 경우보다는 덜 용해되었고 표면층에서도 결정의 형태를 관찰 할 수 있었다. 그렇지만 시간이 경과하면서 결정의 형태가 원형에서 타원형 또는 불규칙한 형태로 변화되는 양상이 나타났다.

③ pH 5.5군 (Figures 7-2, 8-2)

25 mM, 50 mM, 100 mM 전체적으로 초기에는 정상적인 결정의 형태 및 치밀도를 유지하였고 표면층에서는 일부 결정에서 재광화의 양상도 나타났다. 초기에는 유산 농도가 증가하여도 결정은 원형 또는 타원형의 형태를 유지하면서 농도에 따라 결정의 크기가 감소하였고 다른 pH군과는 달리 결정의 cluster 구조가 그대로 유지되었다. 시간이 경과하면서 25 mM, 50 mM 군에서는 결정의 형태 및 치밀도가 초기와 유사하게 나타났으며 결정의 재광화 양상이 나타났다.

IV. 총괄 및 고찰

치아 우식은 섭취된 음식물에 존재하는 탄수화물이 치태 내의 세균에 의해 발효되어 유기산이 형성되고, 생성된 유기산이 치아 경조직의 무기질을 탈회하여 발생하는 질환으로서 숙주저항, 식이습관, 구강위생상태, 구강내 상주균의 구성 등에 의해 영향을 받게 되고 이러한 다양한 요인들의 복합적인 반응에 의해 야기된다고 알려져 있다.

Moore 등⁸⁾은 치태의 우식 유발 정도를 측정하는 기준으로 pH를 사용하였고, Theuns 등^{9,10)}은 완충용액을 이용하여 인공 우식 형성을 형성할 때 포화도가 중요하며, 탈회 속도는 완충용액의 포화도 및 pH, 유기산의 비이온화된 형태의 농도에 따라 영향을 받는다고 하였다.

Margolis 등^{11,12)}은 법랑질의 연구에서 법랑질의 탈회율은 무기질인 칼슘, 인의 용해도와 완충액의 포화도에 의해 결정되며 포화도는 산의 농도, 초기 pH, 칼슘과 인의 농도 등에 의해 영향을 받을 수 있다고 하였다. 이처럼 법랑질 탈회는 단순한 탈회의 과정이 아니고 치태에서 만들어진 유기산이 법랑질의 소공을 통해 확산되는 과정에서 표면층의 초기 용해와 광물질의 침착이 동시에 일어나고 이렇게 표면층의 국소적인 평형관계가 유지되면 유기산의 열역학적 추진력에 의해 내부로 더욱 확산되어 하부 법랑질이 용해되고 이 용해산물이 다시 역확산되어 표층부의 광물질의 침전을 일으키는 복잡한 현상이라고 알려져 있다.

이때까지의 치아 우식증에 대한 연구는 앞에서 언급한 것처럼 주로 법랑질 부위에 국한되어 왔다. 그러나 인구의 고령화가 진행되고 잔존되는 치아의 수가 증가하고 연령 증가에 따른 치주조직의 변화는 치근의 노출 및 치근 우식증에 이환될 수 있는 기회를 증가시키게 되었다. 그러나 치근 우식증에 대해 관심을 갖기 시작한 것은 최근이며 아직까지 이에 대한 조직병리학적 연구는 심도있게 진행되지 않았고 이것에 대한 이해도는 아주 낮은 편이다.

법랑질과 상아질은 조직학적, 화학적 성질에서 많은 차이를 나타내는데, 법랑질은 무게의 95 - 98%가 무기질이고 1 - 2%만이 유기질로 이루어진데 반해, 상아질의 경우 무기질이 45 - 50%이고 유기질이 30%를 차지하고 있다. 무기질은 주로 수산화인회석(hydroxyapatite)으로 구성되며, 유기질은 거의가 제 1형 교원질이다. 광물질의 약 56%는 교원질내에 있다. 따라서 우식이 발생할 경우 수산화인회석 결정의 변화가 나타나게 된다.

따라서 법랑질 우식과 치근 우식은 탈회와 재광화의 특성에 있어 차이가 있을 것으로 예측되는데 Silverstone 등¹³⁾은 치근 우식을 발생 위치와 미생물의 종류의 차이를 들어 치관부 우식과는 별개의 것으로 여겼으나, Aamdal-Scheie 등¹⁴⁾은 구강내 치태의 pH와 세균 균종을 조사한 결과 별다

른 차이가 없음을 보고하였다. 예전의 연구 결과들도 치근과 법랑질 우식은 조직상태에 상관없이 비슷한 양상을 나타내어 Feagin 등¹⁵⁾은 법랑질 인공우식 형성방법을 치근에 적용하여 실험을 진행하였고 본 연구도 이에 입각하여 치근에 이와 같은 방법을 적용하여 실험을 진행하였다.

일반적으로 치근이 법랑질에 비해 우식에 더 취약한데 이는 치근면의 독특한 구조와 화학적 조성이 다르기 때문이다. Hoppenbrouwers 등¹⁶⁾은 높은 carbonate와 magnesium 함량으로 인하여 법랑질에 비해 치근에서의 무기질 용해도가 높을 것이라고 주장하였고 구조적인 차이, 즉 상아세관의 존재로 인하여 법랑질에 비해 백악질과 상아질이 더 투과성이 클 것이라고 하였다. 또한 역동학적 연구에 의하면 Hoppenbrouwers 등¹⁷⁾은 상아질이 법랑질에 비해 더 용해도가 높고 이것은 *in vitro*에서 같은 농도의 산에 노출되었을 때 상아질의 탈회가 법랑질에 비해 빨리 진행한다는 것을 입증하였다.

또한 Katz 등^{2,3)}도 상아질의 무기질 함량이 낮아 법랑질에 비해 산 용해에 대한 저항성이 더 낮을 것이라고 하였고, 우식이 형성되기 위한 임계 pH는 법랑질에서는 pH 5.5인데 비해 상아질에서는 pH 6.7로서 더 높다고 보고하였다. Hoppenbrouwers 등¹⁷⁾은 같은 조건하에서 치근 탈회는 모두 표면 연화를 야기하는데 비해 법랑질 탈회는 모두 표층하 병소를 형성하였다고 보고하였다.

본 연구는 치근 상아질에서 pH 및 유산의 농도 변화에 따른 탈회에 대한 영향을 보고자 하였다. 먼저 산 완충용액의 pH가 인공적인 치아 우식의 형성에 미치는 영향은 크게 두 가지로 생각해 볼 수 있는데 첫 번째로는 pH가 높아짐에 따라 이온화되지 않은 형태의 산이 적어짐으로써 상아질의 표면부를 통과하는 산의 양이 줄어들어 병소의 진행이 느려지는 경우이고, 두 번째로 용해와 확산이라는 균형 사이에 영향을 주기 때문일 것이다. 즉, 낮은 pH에서는 상아질의 용해 작용이 활발해져서 porosity가 늘어날 것이며 산의 확산도 증가하여 탈회를 더욱 촉진시킬 것이다.

Theuns 등^{9,10)}은 pH는 표층 병소의 형성에 관여하기 보다는 단지 탈회의 진행 속도에 영향을 미쳐 pH가 낮을수록 탈회는 더 빠르게 진행된다고 하였으나 Shellis¹⁸⁾는 낮은 pH일수록 빠른 진행속도를 보일 뿐만 아니라 병소의 특성에도 영향을 미친다고 하였다.

한편 유기산의 농도 변화에 따른 우식 병소의 연구에서 Featherstone¹⁹⁾은 plaque fluid나 타액으로부터 기원한 유기질에 의하여 치아 표면에 얇은 막이 형성되며 이러한 막은 생체내에 존재하는 인 단백질성의 막과 같이 비극성의 물질만을 선택적으로 통과시킨다고 하였다. 이렇게 하여 일단 법랑질의 표면을 통과한 유기산은 법랑질의 표면하부에서 극성을 띠는 이온으로 분해가 되어 탈회 작용에 관여하게 되는데 이때 중요한 것이 산의 ionic strength라고 하

였다.

Soni 등²⁰⁾은 유산의 농도가 병소의 형태에 영향을 미친다고 하였는데 낮은 농도일수록 표층하 병소가 많이 형성되고 높은 농도일수록 표면의 완전 탈회와 와동 형성을 보인다고 하였다.

치아에 인공우식을 형성하는 방법으로 *in vivo* 방법과 *in vitro* 방법으로 나눌 수 있으며 *in vitro* 방법으로는 plaque bacteria를 이용하는 방법^{21,22,23)}, acidified gelatin gel을 이용하는 방법^{15,24,25)}, 그리고 partially saturated buffer를 이용하는 방법²⁶⁾ 등이 대표적으로 사용되어 왔으며 Wefel 등²⁷⁾은 치근우식을 유발하기 위해 partially saturated buffer 방법과 acidified gelatin gel 방법을 비교해 본 결과 두 방법 모두 비슷한 결과를 나타냈다고 보고하였다. Gelatin gel을 이용하는 방법은 gel의 점도를 변형시킴으로써 병소 형성을 느리게 조절하여 자연 우식과 유사한 형태의 초기 우식 소견인 암충이나 투명층의 형성을 유도할 수 있다는 장점이 있는 반면 병소 형성 시간이 너무 길고 실험 결과에 영향을 주는 분석이 어려운 화학적 제제가 gel에 포함되어 있다는 단점이 있다. 반면에 partially saturated buffer system을 이용하는 방법은 동역학적인 기전에 의한 우식 형성으로 다른 방법에 비하여 빠른 우식 진행을 보이는 것으로 병소의 진행 속도가 빨라져 자연적인 우식과 달리 암충의 형성이 어려운 단점이 있으나 용액의 영향이 빠른 시간 안에 나타나 결과를 빨리 관찰할 수 있으며 다양한 조건을 손쉽게 변화시킬 수 있는 장점이 있어 우식 병소의 재광화나 우식 억제 물질의 연구, 결정 구조의 성장 및 치아 수복물의 우식 저항성에 관한 연구들을 할 수 있고, 병소 형성에 관계되는 여러 인자를 정확히 분리 평가할 수 있다. *In vitro* 방법 사용의 장점으로는 일관된 결과를 도출시키고 조절 가능하며 비교적 간단한 술식이다. 또한 우식 진행 과정의 이해에 도움을 줄 수 있고 치근 우식 진행을 예방 또는 늦출 수 있는 약제의 발견에 도움을 줄 수 있을 것이다.

인공 치근 우식의 조직병리 연구를 위한 방법으로 Phankosol 등²⁸⁾은 transmitted light microscopy, polarized light microscopy (편광현미경), microradiography 등의 방법으로 연구를 진행하였다.

또한 Schüpbach 등²⁹⁾은 microradiography 관찰 시 초기 치근 우식 병소가 특징적으로 radiopaque surface와 radiolucent body of lesion으로 나타난다고 하였고 백악질, 상아질, 법랑질은 우식에 대해 같은 반응을 나타낸다고 생각하였다.

편광현미경 관찰시 imbibition medium으로 물을 사용하였을 경우 병소 본체와 건전 상아질 간에 명확한 구분이 나타나게 되므로 편광현미경을 이용하여 병소 깊이를 직접 측정할 수 있게 된다. 편광현미경은 표면 탈회를 관찰하는데

transmitted light microscopy보다 상세하여 병소의 양상 및 깊이 측정이 용이한데 Wefel 등³⁰⁾은 편광현미경이 transmitted light microscopy에 비해 여러 가지 우수한 점이 있다고 주장하였다. 편광현미경 사용 시 백악질은 상아질과 쉽게 구별할 수 있는데 백악-상아경계를 기준으로 두 조직 간에 반대의 복굴절 (birefringence)을 나타나게 된다. 즉 백악질은 음성복굴절 (negative birefringence), 상아질은 양성복굴절 (positive birefringence)을 나타나게 되어 두 조직 간의 대조적인 현상으로 인해 쉽게 구분 지을 수 있겠다. 또한 탈회 시 상아질의 양성 복굴절은 증가하게 되고 건전 상아질과의 구별이 용이해진다. 반면 편광현미경을 이용한 경우 병소의 깊이는 측정이 가능하지만 실제 무기질의 소실을 정량적으로 비교하는 것은 불가능하고 표층에 재광화가 일어난 경우 이 부위에 어느 정도 광물질의 소실과 침착이 일어났는지를 비교할 수 없다는 단점이 있다.

치근 우식이 진행되면 편광현미경 관찰 시 병소본체 하방에 음성복굴절을 나타내는 띠 모양이 관찰되는데 Furseth 등³¹⁾에 의해 보고된 zone of band라고 추측된다. 이들은 병소의 전방부에서 무기질이 유리되면 탈회된 collagen matrix에 느슨하게 재침착하게 되어 무기질이 감소된 부위의 재광화를 일으키게 된다. 반면 Westbrook 등³²⁾은 실험 시 어떤 시편에서 active lesion 하방에 hypermineralized area가 나타났고 이와 같은 radiopaque zone은 carious irritant에 대한 보호반응이라고 할 수 있다고 주장하였다. 또한 hypermineralization에 의한 linear line은 hypermineralized dentinal tubule이라고 해석하였다. 반면 Clarkson 등^{21,23)}은 유기산에 의해 탈회된 상아질은 재광화를 유도할 능력이 없다고 보고하였고 Wefel 등²⁷⁾은 잔존 organic matrix가 재광화를 위한 적절한 기질로 작용하지는 않았지만 잔존 무기질에서 재광화가 일어났다고 보고하였다.

인공 치아 우식 연구에서 주사전자현미경을 이용한 수산화인회석 결정의 관찰이 많이 시도되었으나 주로 자연 치아에서의 관찰이 많았다. Schüpbach 등²⁹⁾의 자연 치근에 대한 주사전자현미경 연구에 의하면 상아세관이 관주 상아질에서 유래한 바늘상의 결정체에 의해 폭이 좁아짐을 보고하였고 이러한 결정체는 관간 상아질에서 관찰되는 수산화인회석 결정크기보다 비슷하거나 크다고 하였다.

또한 Takuma 등³³⁾의 연구에서 상아질의 EPMA (electron probe microanalysis) 관찰을 통하여 재광화된 표면층은 불소와 칼슘이 고농도로 관찰되었고 결정 구조도 정상 상아질에 비해 매우 커짐을 관찰하였고 탈회된 부위에서는 칼슘, 인, 마그네슘이온의 농도가 감소하고 결정 크기에 있어서도 재광화 부위보다는 작지만 정상 상아질에서 보다는 큰 결정이 관찰됨을 보고하였다. 그러나 LeGros³⁴⁾는 주사전자현미경을 이용한 결정 형태의 구별은 pyrophosphate,

zinc, CO₂와 같은 이온이 결정의 형태를 변화시킬 수 있어 때로는 잘못된 해석을 유도할 수 있으므로 결과 분석에 주의해야 한다고 주장하였다.

Arends 등³⁵⁾은 초기 우식 병소의 표면을 주사전자현미경을 이용하여 관찰하였는데 이 경우 시료의 처리 과정에서 인공 결손부가 발생할 수 있으며 도말층의 제거를 위한 산 처리 과정에서 다공성이 증가할 수 있는 문제점이 있음을 보고하였다. 이들의 연구결과에서는 탈회군과 대조군간의 결정 구조에 큰 차이가 없다고 하였지만 이는 본 실험의 결과와 차이를 보이고 있다.

그리하여 주사전자현미경 관찰을 위한 시편 제작 시 한 등³⁶⁾의 연구에서 사용한 방법인 osteotome과 mallet을 이용하여 치근을 파절시켜 bur나 saw를 이용한 절단방법에 의해 발생하는 도말층 형성을 원천적으로 제거하였다.

본 실험에서는 탈회 완충용액의 pH와 유산 농도 변화에 따라 나타난 우식병소내 양상을 편광현미경으로 관찰하고 표층과 상아세관, 관주 상아질, 관간 상아질 등 탈회된 상아질의 수산화인회석의 결정 형태 변화를 관찰하고 탈회된 무기질의 조성의 차이를 보이는 각 구조에서 어떤 변화가 일어나는지를 관찰하고자 주사전자현미경을 이용하여 관찰하였다.

본 실험 결과 탈회된 병소내에서는 명확하게 구별되는 네 개의 층, 즉, 표면층, 표면층 하방의 재광화층, 병소 본체, 병소 본체 하방에 형성된 재광화된 밴드층을 관찰할 수 있었다.

특이한 점은 표면층에서의 광화된 관간 상아질과 탈회 상아질 내의 광화된 띠 모양의 구조를 확인할 수 있었는데, 광화된 표면층과 탈회된 병소 하방의 광화층의 존재는 Schüpbach 등^{29,37,38,39)}과 Nyvad 등^{40,41,42)}에 의해 제안된 치근 우식의 진행 시 나타나는 탈회와 재광화가 동시에 일어나는 역동학적인 과정이라고 할 수 있겠다. 그러나 Daculsi 등^{43,44)}은 표면층 부근의 탈회된 관간 상아질의 재광화는 자발적인 침전이 아닌 기존에 있는 잔존 결정의 성장이라고 주장하였다. 본 실험에서 확인된 관간 상아질의 탈회가 이미 완성된 상태에서 표면층에서의 재광화된 층이 이와 같이 잔존 결정의 성장에 의해 형성되었다고 보기에는 어렵다. 그러므로 표면층에서 재광화층이 형성되는 결과는 탈회 용액내의 무기질의 침착과 탈회 시 용해되어 외부로 확산되는 칼슘과 인 이온의 재침착에 의한 두 가지 기전에 의해 형성되었다고 볼 수 있겠다. Hayashi 등⁶⁾은 투과전자현미경으로 법랑질의 수산화인회석의 결정 구조를 관찰하였고 탈회가 일어난 부위에서 수산화인회석의 결정의 종단면에서 입자의 변연부가 소실되고 동시의 중앙 부위가 용해되어 중앙 천공이 일어난 모습을 관찰하여 보고하였다. Holmen 등⁷⁾은 인공 우식 초기에 수산화인회석 결정에 부분적인 용해가 일어나고 그 결과 입자 사이의 공간이 증가하고 이 공간을 통해 무

기질 이온이 이동할 수 있다고 보고하였다. Tohda 등⁵⁾은 법랑질 우식증에서 표층하 병소가 상당히 진행된 단계에서도 예상과는 달리 표면층에서의 수산화인회석 결정의 중심부 용해가 명확하게 나타나지 않았고 법랑질과 비교하여 비교적 결정의 크기가 작은 백악질 및 상아질에서도 결정의 중심부 용해는 거의 나타나지 않았다고 하였다. 본 실험에서도 이와 같이 수산화인회석의 결정 변화는 중심부에서 명확하게 나타나지 않았고 결정 형태의 변화가 각 pH 및 유산 농도에 따라 원형, 타원형 또는 불규칙한 형태로 나타났다. 한편 특이하게 나타난 현상으로 표면층의 수산화인회석의 결정 형태 관찰시 모든 군의 시편에서 collagen fiber 표면에 결정 형태가 변형된 상태로 부착되어 있는 것을 확인할 수 있었다.

Arends 등⁴⁵⁾은 초기에 산에 의해 표층의 광물질 소실이 나타나는 표면 연화 단계가 나타나고 그 후 점차 재광화됨으로써 표층이 형성된다고 하였다. 이러한 사실은 pH 5.5 군의 25mM, 50mM 유산농도에서 노출된 초기에는 표층 형성 없이 단지 탈회만 관찰할 수 있었으나 시간이 지남에 따라 표층하 병소가 형성되었고 주사전자현미경에서도 일부 시편에서 확인할 수 있었다.

Dietz 등⁴⁶⁾, Wefel 등^{27,30)}의 연구에서 편광현미경을 이용한 인공 우식 실험에서 백악질을 제거한 군과 백악질이 있는 군 사이에 차이를 발견할 수 없었다고 하였다. 또한 McIntyre 등⁴⁷⁾도 서로 다른 두께의 백악질을 가지는 인공 치근 우식에서 병소 깊이에는 큰 차이가 없음을 보고하였다.

본 연구에서 백악질을 제거하려는 노력에도 불구하고 일부 시편에서는 잔존하는 백악질이 관찰되었지만 실험의 결과에는 특별한 영향을 미치지 않은 것으로 보인다. 이는 아마도 백악질의 두께가 백악-상아질 경계 부위에서 약 20 μm 로 전체 탈회된 깊이의 평균인 176.9 μm 에 비해 표층에 국한되어 존재하고 백악질의 구조가 상아질이나 법랑질보다 수분이 많고 광물질이 적으며 다공성이어서 이온의 이동이 빨리 일어날 수 있었기 때문으로 여겨진다.

탈회 및 재광화 과정을 통한 수산화인회석 결정의 관찰을 위하여 박 등⁴⁸⁾이 atomic force microscope (AFM), 한 등³⁶⁾이 주사전자현미경을 이용하였다. 주사전자현미경이나 투과전자현미경의 경우에는 치아가 탈회되는 동안 나타나는 미세 구조의 변화를 알 수는 있으나, 이런 경우 시편의 물리적, 화학적 처리 과정과 diamond-cutting knife를 이용한 절단 과정 등을 거쳐야 한다. 반면 AFM의 경우에는 원하는 측정 영역을 지정하면 probe tip이 표면에 힘을 가하면서 표면을 laser로 scanning하고 이 결과를 detector가 받아들여 상을 나타내므로 사용상의 편리한 점이 있으며 시편 처리 과정에 따른 오차를 줄일 수 있고 하나의 시편에서 탈회 전, 후 및 시간에 따라 관찰이 가능하기 때문에 입

자 사이의 공간에 어떠한 변화가 있는지를 시간에 따라 알 수 있다는 이점이 있다. 반면 매우 고배율로 상을 관찰하므로 동일한 영역을 다시 관찰하는 것이 매우 어려운 점이 있고 또한 곡면에서는 상이 흐려질 가능성이 높기 때문에 넓은 영역의 관찰 시에는 한계점이 있다.

결론적으로 본 연구는 인공적으로 탈회를 유발시킨 상아질 우식의 수산화인회석 결정의 변화 상태 및 탈회 과정을 주사전자현미경을 이용하여 관찰하였다. 그러나 3차원적인 관찰은 가능하였으나 시편의 조작 및 동일 영역의 재관찰의 어려움을 해결해야 하는 것이 첫 번째 문제이고 두 번째로 탈회 시 수산화인회석 결정의 용해가 결정의 어느 부위에서부터 시작되는지를 좀 더 명확하게 규명하기 위한 부가적인 투과전자현미경 또는 AFM의 연구가 필요하리라 생각된다.

V. 결 론

본 연구는 산 완충용액 내의 pH와 유산의 농도를 변화시켜 야기된 인공적인 치근 상아질 우식 병소의 진행 과정을 편광현미경을 이용하여 관찰하고 관찰된 우식 병소층의 수산화인회석 결정 형태 변화를 주사전자현미경으로 관찰하여 탈회 과정을 살펴보고자 세 가지 pH (4.3, 5.0, 5.5)군과 각각의 pH군에 세 가지 유산의 농도 (25 mM, 50 mM, 100 mM)를 이용하여 인공 치근 우식을 형성한 후 비교 분석하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 편광현미경 조건에서 우식 병소의 깊이는 pH 보다는 유산의 농도에 의해 더 영향을 많이 받았다.
2. 주사전자현미경 조건에서 유산의 농도가 높아질수록 그리고 pH가 낮아질수록 수산화인회석 결정의 소실이 더 많이 진행되었다.
3. 탈회는 수산화인회석 결정의 변연부가 소실되며 결정 cluster 내 결정의 숫자 및 크기가 감소하였고 결정 cluster 사이의 간격이 넓어지는 양상으로 관찰되었다.
4. 표면층에서의 주사전자현미경 관찰시 유산의 농도가 높아질수록 수산화인회석 결정 cluster의 형태는 소실되고 콜라겐 섬유 표면에 수산화인회석 결정의 용해, 재결합된 양상으로 관찰되었다.
5. 탈회 과정에 대한 주사전자현미경 관찰시 상아질의 탈회는 단순히 탈회만 독립적으로 일어나는 과정이 아닌 탈회와 재광화가 동시에 일어나는 양상으로 관찰되었다.

이상의 결과 완충용액 내의 유산의 농도가 높아지고 pH가 낮아질수록 탈회의 속도가 증가하고 탈회의 과정은 수산화인회석 결정 cluster의 표면으로부터 진행되며 시간이 경과함에 따라 수산화인회석 결정의 형태는 원형 또는 타원형에서 불규칙한 형태로 변화되었다.

참고문헌

1. Darby ET. The etiology of caries at the gum margin and labial and buccal surfaces of the teeth. *Dental Cosmos* 26:218-232, 1984.
2. Katz S, Park KK, Palenik CJ. *In vitro* root surface caries studies. *J Oral Med* 42:40-48, 1987.
3. Katz RV, Hazen SP, Chilton NW, Mumma Jr. RD. Prevalence and intraoral distribution of root caries in an adult population. *Caries Res* 16:265-271, 1982.
4. Beck JD, Hunt R, Hands JS, Field HM. Prevalence of root and coronal caries in a noninstitutionalized older population. *JADA* 111:964-968, 1985.
5. Tohda H, Fejerskov O, Yanagisawa T. Transmission electron microscopy of cementum crystals correlated with Ca and F distribution in normal and carious human root surfaces. *J Dent Res* 75:949-954, 1996.
6. Hayashi Y. High resolution electron microscopy of enamel crystallites demineralized by initial dental caries. *Scanning Microscope* 9:199-206, 1995.
7. Holmen L, Thylstrup A, Featherstone JDB, Fredebo L, Shariati M. A scanning electron microscopic study of surface changes during development of artificial caries. *Caries Res* 19:11-21, 1985.
8. Moore BW, Carter WJ, Fosdick LS. The formation of lactic acid in dental plaque. *J Dent Res* 35:778-785, 1956.
9. Theuns HM, van Dijk JWE, Driessens FCM, Groeneveld A. Effect of the pH of buffer solutions on artificial carious lesion formation in human tooth enamel. *Caries Res* 18:7-11, 1984.
10. Theuns HM, van Dijk JWE, Driessens FCM, Groeneveld A. Effect of time, degree of saturation, pH and acid concentration of buffer solutions on the rate of *in vitro* demineralization of human enamel. *Arch Oral Biol* 30:37-42, 1985.
11. Margolis HC, Zhang YP, Lee CY, Kent Jr. RL, Moreno EC. Kinetics of enamel demineralization *in vitro*. *J Dent Res* 78:1326-1335, 1999.
12. Margolis HC, Murphy BJ, Moreno EC. Development of caries-like lesions in partially saturated lactate buffers. *Caries Res* 19:36-45, 1985.
13. Silverstone LM, Johnson NW, Hardie JM, Williams RA. Dental caries, aetiology, pathology and prevention. the MacMillan Press. pp. 176-177, 1981.
14. Aamdal-Scheie A, Luan WM, Dahlen G, Fejerskov O. Plaque pH and microflora of dental plaque on sound and carious tooth surface. *J Dent Res* 75:1901-1908, 1996.
15. Feagin FF, Graves CN. Evaluation of the effects of F in acidified gelatin gel on root surface lesion development *in vitro*. *Caries Res* 22:145-149, 1988.
16. Hoppenbrouwers PMM, Driessens FCM, Borggreven JMPM. The vulnerability of unexposed human dentin roots to demineralization. *J Dent Res* 65:955-958, 1986.
17. Hoppenbrouwers PMM, Driessens FCM, Borggreven JMPM. The mineral solubility of human tooth roots. *Arch Oral Biol* 32:319-322, 1987.
18. Shellis RP. Effects of a supersaturated pulpal fluid on the formation of caries-like lesions on the roots of human teeth. *Caries Res* 28:14-20, 1994.
19. Featherstone JDB. Diffusion phenomena during artificial carious lesion formation. *J Dent Res* (Special issue) 56:D48-D52, 1977.
20. Soni NN, Brudevold F. Microradiographic and polarized-light studies of artificially produced lesions. *J Dent Res* 39:233-240, 1960.
21. Clarkson BH, Hall DL, Heilman JR, Wefel JS. Effect of proteolytic enzymes on caries lesion formation *in vitro*. *J Oral Pathol* 15:423-429, 1986.
22. Clarkson BH, Wefel JS, Miller I. A model for producing caries-like lesions in enamel and dentin using oral bacteria *in vitro*. *J Dent Res* 63:1186-1189, 1984.
23. Clarkson BH, Krell D, Wefel JS, Crall J, Feagin FF. *In vitro* caries-like lesion produced by *Streptococcus mutans* and *Actinomyces viscosus* using sucrose and starch. *J Dent Res* 66:795-798, 1987.
24. Shay K. Root caries in the older patient. *Dent Clin North Am* 41:763-793, 1997.
25. Silverstone LM. Observations on the dark zone in early enamel caries and artificial caries-like lesions. *Caries Res* 1:261-274, 1967.
26. Moreno EC, Zahradnik RT. Chemistry of enamel subsurface demineralization *in vitro*. *J Dent Res* (Supplement) 53:226-235, 1974.
27. Wefel JS, Heilman JR, Jordan TH. Comparisons of *in vitro* root caries models. *Caries Res* 29:204-209, 1995.
28. Phankosol P, Ettinger RL, Hicks MJ, Wefel JS. Histopathology of the initial lesion of the root surface: an *in vitro* study. *J Dent Res* 64:804-809, 1985.
29. Schüpbach P, Guggenheim B, Lutz F. Human root caries - histopathology of initial lesions in cementum and dentin. *J Oral Pathol Med* 18:146-156, 1989.
30. Wefel JS, Clarkson BH, Heilman JR. Natural root caries - a histologic and microradiographic evaluation. *J Oral Pathol* 14:615-623, 1985.
31. Furseth R, Johansen E. The mineral phase of sound and carious human dental cementum studied by electron microscopy. *Acta Odontol Scand* 28:305-322, 1970.
32. Westbrook JL, Miller AS, Chilton NW, Williams FL, Mumma Jr. RD. Root surface caries - a clinical, histopathologic and microradiographic investigation. *Caries Res* 8:249-255, 1974.
33. Takuma S, Ogiwara H, Suzuki H. Electron-probe and electron microscope studies of carious dentinal lesions with a remineralized surface layer. *Caries Res* 9:278-285, 1975.
34. LeGros RZ. Formation and stability of synthetic apatites. In: calcium phosphates in oral biology and medicine. Karger, pp. 82-107, 1991.
35. Buskes JA, Christoffersen J, Arends J. Lesion formation and lesion remineralization in enamel under constant composition conditions - A new technique with applications. *Caries Res* 19:490-496, 1985.
36. 한원섭, 이찬영. 유기산 완충용액의 불소농도가 상아질의 재광화에 미치는 영향. 연세대학교 대학원 논문, 2004.
37. Schüpbach P, Guggenheim B, Lutz F. Histopathology of root surface caries. *J Dent Res* 69:1195-1204, 1990.
38. Schüpbach P, Guggenheim B, Lutz F. Human root caries - histopathology of advanced lesions. *Caries Res* 24:145-158, 1990.
39. Schüpbach P, Guggenheim B, Lutz F. Human root caries - histopathology of arrested lesions. *Caries Res* 26:153-164, 1992.
40. Nyvad B, ten Cate JM, Fejerskov O. Microradiography of experimental root surface caries in man. *Caries Res* 23:218-224, 1989.

41. Nyvad B, Fejerskov O. Root surface caries - clinical, histopathological and microbiological features and clinical implications. *Int Dent J* 32:311-326, 1982.
42. Nyvad B, Fejerskov O. Active and inactive surface caries - structural entities? In ; Thylstrup A, Leach SA, Qvist V eds. Dentine and dentine reactions in the oral cavity. Oxford , IRL Press, 1987 : pp.165-179.
43. Daculsi G, Kerebel B, Le Cabellec M, Kerebel L. Qualitative and quantitative data on arrested caries in dentine. *Caries Res* 13:190-202, 1979.
44. Daculsi G, Le Geros RZ, Jean A, Kerebel B. Possible physico-chemical processes in human dentin caries. *J Dent Res* 66:1356-1359, 1987.
45. Arends J, Christoffersen J. The nature of early caries lesions in enamel. *J Dent Res* 65:2-11, 1986.
46. Dietz W, Kraft U, Hoyer I, Klingberg G. Influence of cementum on the demineralization and remineralization processes of root surface caries *in vitro*. *Acta Odontol Scand* 60:241-247, 2002.
47. McIntyre JM, Featherstone JD, Fu J. Studies of dental root surface caries (2) - The role of cementum in root surface caries. *Aust Dent J* 45:97-102, 2000.
48. 박정원, 허복, 이찬영. 유기산 완충용액의 포화도가 법랑질 및 상아질의 재광화에 미치는 영향과 수산화인회석의 AFM관찰. *대한치과보존학회지* 25:459-473, 2000.

국문초록

산 완충용액의 pH 및 유산의 농도가 인공치근우식의 형성에 미치는 영향

오현석 · 노병덕 · 이찬영*

연세대학교 치과대학 치과보존학교실

치근 우식증은 복합적인 요인에 의해 발생하는 질환으로 고령인구의 증가로 최근 증가추세에 있으나 아직까지는 병소 깊이, 상아질 탈회의 정도 및 양상, collagen의 파괴 정도 및 수산화인회석 결정 변화에 대한 탈회 완충액의 조직학적 연구는 미비한 실정이다.

본 연구는 우식 형성에 영향을 주는 산 완충용액 내의 pH와 유산의 농도변화에 따른 치근 상아질 우식 병소의 진행에 미치는 변화를 편광현미경을 이용하여 관찰하고 관찰된 우식 병소층의 수산화인회석 결정 형태 변화를 주사전자현미경으로 관찰하여 탈회 과정을 살펴보고자 세 가지 pH (4.3, 5.0, 5.5)군과 각각의 pH군에 세 가지 유산의 농도 (25 mM, 50 mM, 100 mM)를 이용하여 인공치근 우식을 형성한 후 비교 분석하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 편광현미경 소견에서 우식 병소의 깊이는 pH 보다는 유산의 농도에 의해 더 영향을 많이 받았다.
2. 주사전자현미경 소견에서 유산의 농도가 높아질수록 그리고 pH가 낮아질수록 수산화인회석 결정의 소실이 더 많이 진행되었다.
3. 탈회는 수산화인회석 결정의 변연부가 소실되며 결정 cluster내 결정의 숫자 및 크기가 감소하였고 결정 cluster 사이의 간격이 넓어지는 양상으로 관찰되었다.
4. 표면층에서의 주사전자현미경 관찰 시 유산의 농도가 높아질수록 수산화인회석 결정 cluster의 형태는 소실되고 콜라겐 섬유 표면에 수산화인회석 결정의 용해, 재결합된 양상으로 관찰되었다.
5. 탈회 과정에 대한 주사전자현미경 관찰 시 상아질의 탈회는 단순히 탈회만 독립적으로 일어나는 과정이 아닌 탈회와 재광화가 동시에 일어나는 양상으로 관찰되었다.

이상의 결과 산 완충용액 내의 유산의 농도가 높아지고 pH가 낮아질수록 탈회의 속도가 증가하고 탈회의 과정은 수산화인회석 결정 cluster의 표면으로부터 진행되며 시간이 경과함에 따라 수산화인회석 결정의 형태는 원형 또는 타원형에서 불규칙한 형태로 변화되었다.

주요어: 치근 우식증, 산 완충용액, pH, 유산농도, 탈회, 수산화인회석, 주사전자현미경