

pH 4.3에서 재광화 용액의 포화도에 따른 인공 탈회된 법랑질의 동력학적 변화

이지숙 · 노병덕 · 신수정 · 이 윤 · 공형규 · 이찬영*

연세대학교 치과대학 치과 보존학교실

ABSTRACT

THE DYNAMIC CHANGE OF ARTIFICIALLY DEMINERALIZED ENAMEL BY DEGREE OF SATURATION OF REMINERALIZATION SOLUTION AT pH 4.3

Ji-Sook Yi, Bung-Duk Roh, Su-Jung Shin, Yoon Lee, Hyung-Kyu Gong, Chan-Young Lee

Department of Conservative Dentistry, College of dentistry, Yonsei University

The purpose of this study is to observe and compare the dynamic change of artificially demineralized enamel by remineralization solutions of different degrees of saturation at pH 4.3.

In this study, 30 enamel specimens were demineralized artificially by lactic acid buffered solution. Each of 10 specimens was immersed in pH 4.3 remineralization solution of three different degrees of saturation (0.22, 0.30, 0.35) for 10 days. After demineralization and remineralization, images were taken by a polarizing microscope ($\times 100$). The density of lesion were determined from images taken after demineralization and remineralization.

During remineralization process, mineral deposition and mineral loss occurred at the same time. After remineralization, total mineral amount and width of surface lesion increased in all groups. The higher degree of saturation was, the more mineral deposition occurred in surface lesion and the amount of mineral deposition was not much in subsurface lesion. Total demineralized depth increased in all groups. [J Kor Acad Cons Dent 34(1):20-29, 2009]

Key words: Enamel, Demineralization, Remineralization, pH, Degree of saturation, Mineral density

- Received 2008.9.10., revised 2008.10.23., accepted 2008.11.20-

I. 서 론

치아 우식은 구강 질환 중 가장 높은 발병률을 나타내는 질환이다. 이런 치아 우식은 세균, 음식물, 타액의 상호작용으로 산이 형성되어 치질의 파괴가 일어나는 과정으로 우식의 발병 기전에는 여러가지 가설들이 있다.

Featherstone 등¹⁾은 우식의 발병 기전으로 유기산이 비이온화된 형태로 법랑질의 세공을 통해 확산되어 내부의 법랑질을 용해시키고 용해된 광물상이 다시 비이온화된 형태

로 되어 법랑질 밖으로 나오는 simple diffusion model을 주장하였다. 또 Magolis 등²⁾에 의하면 우식이란 유기산에 의해 광물상의 용해와 침착이 동시에 일어나고 평형관계가 유지되면 유기산이 내부로 확산되어 하부 법랑질이 용해되고, 이 용해산물이 다시 역확산되어 표층부에 광물상의 침전을 일으키는 복잡한 현상이라고 기술하였다.

여러 학자들에 의해 초기 법랑질 우식이 재광화가 가능하다는 것이 밝혀졌는데 Head 등³⁾에 의해 산부식된 법랑질의 재광화 현상이 최초로 보고된 이래, Anderson⁴⁾이 in vivo에서 법랑질 초기 우식이 재광화됨을 입증함으로써 구강내 환경에 따라서 탈회가 중단되거나 재광화될 수 있음을 보고하였다. 임상 보고로는 Backer-Dirks⁵⁾가 8세 아동에서 백색 반점이 타액의 재광화로 1년 후 50% 정도가 사라짐을 관찰하여 “reversals of diagnosis”라 하였다. ten Cate 등⁶⁾은 우식 병소의 재광화 기전을 수산화인화석의 침착에

*Corresponding Author: **Chan-Young Lee**
College of Dentistry, Yonsei University
134 Shinchon-Dong, Seodaemun-Ku, Seoul, 120-752, Korea
Tel: 82-2-2228-8700 Fax: 82-2-313-7575
E-mail: chanyoungl@yuhs.ac

의한 것이라고 하였고, 이런 현상이 초기에 표층 근처에서 시작되어 점차 안쪽으로 진행하여 결국 암층까지 진행된다고 설명하였다. Moreno 등⁷⁾은 solubility diagram을 통하여 법랑질과 dicalcium phosphate dehydrate (DCPD)의 용해를 나타내고 이들이 만나는 점을 singular point라고 하여 이 상부에서 법랑질이 DCPD로 바뀌면서 법랑질 표면에 침착된다고 보고하였다.

이러한 치아의 탈회와 재광화는 동시에 일어나는 과정이기 때문에 치아의 우식 정도를 변화시키는 여러 조건들(pH, 불소 농도, 포화도 등)이 재광화 실험에서도 같이 고려되어야 한다.

Margolis 등^{7,8)}은 법랑질 탈회율이 포화도에 의하여 조절된다고 하였다. Calcium phosphate에 대한 포화도는 calcium phosphate의 thermodynamic solubility product constant에 대한 ionic activity product rate로 정의된다고 하였으며 이러한 포화도는 산의 농도, 초기 pH, 칼슘과 인의 농도 등에 의해 영향을 받는다고 하였다. Moreno 등⁹⁾도 치아의 우식이 일어날 때 영향을 미치는 인자로 pH 이외에 용액의 포화도가 중요한 요소가 된다고 하였는데, 치아가 담긴 재광화 용액이 저포화 상태일 때 치아에서 무기질이 빠져나가 탈회가 일어나게 되고 빠져나간 용액의 칼슘, 인 이온이 DCPD의 형태로 법랑질 표면에 침착이 일어나 표면하층을 형성한다고 하였다. 이¹⁰⁾의 연구에 의해서도 법랑질 우식을 유발할 경우 탈회 용액의 포화도를 조절하여 탈회 양상을 조절할 수 있음을 보고하였다. 또한 박 등¹¹⁾에 의하면 법랑질에서 용액의 포화도가 증가할수록 재광화의 양이 증가하는 경향을 보였고, 포화도가 가장 높은 군에서는 무기질의 침착이 표층에 국한되는 경향을 보였다. Okazaki 등¹²⁾은 높은 포화도로 인하여 재광화 과정에서 표층에 침착된 결정의 크기가 커지고 결정 사이의 확산통로가 축소되어 내부로의 무기질 침투가 차단된다고 하였다.

이에 본 연구에서는 pH 4.3인 재광화 완충용액에서 포화도 변화에 따른 법랑질 인공 우식 병소의 재광화 양상을 편광현미경과 디지털 카메라를 이용하여 관찰하고, 상의 mineral density (혹화도)변화를 분석하여 무기질 변화량을 통해 인공 탈회된 법랑질의 동력학적 변화를 관찰하고자 한다.

II. 실험 재료 및 방법

1. 시편제작

우식이 없고 탈회되지 않은 발거한 건전한 소구치를 선택하여 치면에 부착된 연조직과 치석을 periodontal curette으로 제거하고 불소가 포함되지 않은 연마제로 치면을 연마한 다음 초음파 세척기로 10분간 세정하고 증류수로 세척,

건조하였다.

10 ml 용 시린지를 이용하여 만든 높이 1 cm, 직경 1 cm의 tube에 치과용 아크릴 레진을 이용하여 치근 부위만 매몰하였다. 경화 후 저속 diamond wheel saw (Minitom, Struers, Denmark)를 이용하여 치아 장축에 평행하게 근원심 방향으로 0.2 - 0.3 mm의 절편을 만든 다음 #800, #1200 사포를 이용하여 0.15 - 0.20 mm두께로 연마하였다. 연마 후 초음파 세척기로 10분간 세정한 후 윗면과 아랫면을 bonding agent (Scotchbond MP, 3M, U.S.A.)로 질소가스 하에 광중합하고, 근원심쪽의 손상이나 균열이 없는 법랑질 부위 중 약 2 - 3 mm정도의 window를 제외하고 시편의 옆면에 nail varnish를 도포하였다. 한 군당 10개의 시편이 되도록 30개의 시편을 준비하였다 (Figure 1).

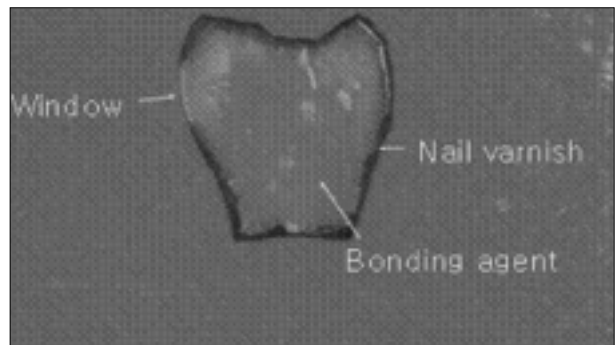


Figure 1. Enamel specimen used in the experiment

2. 실험 용액의 제조

1) Stock 용액의 제조

30% 유산 용액 (Sigma Co., St. Louis., U.S.A. 분자량 90.09, 밀도 1.080)을 이용하여 0.995 M lactic acid, 염화칼슘 분말 (Sigma Co., St. Louis., U.S.A. 분자량 147.0)을 이용하여 0.287 M의 calcium, 인산칼륨 분말 (Sigma Co., St. Louis., U.S.A. 분자량 136.1)을 이용하여 0.969 M의 phosphate를 만들어 이를 stock solution으로 사용하였다.

2) 탈회 완충용액의 제조

Table 1에 있는 lactic acid, calcium, phosphate의 농도가 되도록 stock solution으로부터 계산된 양을 취하고, 3.08 mM NaH₂PO₄를 첨가한 다음, 8 N 수산화칼륨 표준용액으로 pH meter (Model 920A, Orion Research Inc., U.S.A.)계측 하에 pH 4.3이 되도록 조절하였다. 위 용액을 Ion chromatography (790 Personal Ion Chromatography, Metrohm, Switzerland)로 정량 분석하여 시편의 탈회 용액으로 사용하였다.

Table 1. Initial composition of demineralization solution

Composition	Concentration
Lactic acid (mM)	100
Calcium (mM)	15.5
Phosphate (mM)	8.5
Sodium azide (mM)	3.08
pH	4.3

3) 재광화 완충용액의 제조

Stock solution을 이용하여 불소가 2 ppm 포함되게 하고 3.08 mM NaN₃를 첨가하고, 8 N 수산화칼륨 표준용액으로 pH 4.3이 되도록 하여 포화도가 다른 세그먼트의 재광화 용액을 만들었다. 이를 Ion chromatography (790 Personal Ion Chromatography, Metrohm, Switzerland)로 정량 분석하여 시편의 재광화 용액으로 사용하였다 (Table 2).

Table 2. Initial composition of remineralization solution

Composition	Group		
	1	2	3
Lactic acid (mM)	10.00	10.00	10.00
Calcium (mM)	19.98	27.56	33.17
Phosphate (mM)	7.94	10.25	12.52
Sodium azide (mM)	3.08	3.08	3.08
Fluoride (ppm)	2.00	2.00	2.00
pH	4.30	4.30	4.30
Degree of saturation	0.22	0.30	0.35

3. 법랑질 인공 우식의 형성 및 관찰

50 ml 플라스틱 통에 탈회 완충용액 30 ml를 채우고 시편을 통의 중앙에 위치하도록 설치한 후, 섭씨 25도 항온조에 4일간 반응시켰다. 시편을 편광현미경 (I221, 동원 정밀, 한국)하에 증류수를 침윤시켜 배울 100배인 상태에서 디지털 카메라 (Coolpix 950 Nikon corporation, Japan)로 0, 1, 2, 3, 4일째 사진 촬영하였다.

4. 법랑질 인공 우식의 재광화 및 관찰

50 ml 플라스틱 통에 재광화 완충용액 30 ml를 채우고 시편을 통의 중앙에 위치하도록 설치한 후, 섭씨 25도 항온조에 10일간 반응시키고, 이 때 용액을 2일 간격으로 교체하였다. 시편을 편광현미경 (I221, 동원 정밀, 한국)하에 증류수를 침윤시켜 배울 100배인 상태에서 디지털 카메라 (Coolpix 950 Nikon corporation, Japan)로 매일 사진 촬영하였다.

5. 실험 자료 분석

편광현미경을 이용하여 시편을 100배로 관찰하고, 현미경에 연결된 디지털 카메라로 이를 촬영하였다. 전체 탈회 깊이의 평가를 위해 임의의 각기 다른 지점에서 다섯 부위를 선택하여 표면층에서 양성 복굴절 끝까지 수직 길이를 측정하고 0.01 mm 표시된 슬라이드를 이용하여 촬영한 상에서 측정한 길이를 환산하여 각 구간 평균값을 계산하였다. 또한 건전 표층의 폭은 표면에서 건전 표면층의 음성 복굴절 끝까지의 수직길이를 측정하여 평균값을 위와 같은 방법으로 산출하였다.

이후 전체 탈회 깊이의 변화율은 재광화 후 전체 탈회 깊이를 탈회 후 전체 탈회 깊이로 나누어 백분율 (%)로 확인하였고, 건전 표층 폭의 변화율도 재광화 후 건전 표층 폭을 탈회 후 건전 표층 폭으로 나누어 백분율 (%)로 확인하였다.

Photoshop 프로그램 (Adobe, U.S.A.)을 이용하여 디지털 카메라로 촬영한 재광화 전후 시편사진을 중첩시켜 동일 면적을 얻은 뒤, Scion Image analyzer (Scion Corporation, Maryland, U.S.A.)로 재광화 전후의 mineral density (흑화도)를 측정하고, 이를 spread sheet program (Excel, Microsoft, U.S.A.)를 이용하여 graph로 재구성하였다. 이 graph의 면적을 계산하여 재광화가 일어난 양을 백분율 (%)로 표시하였다.

위의 결과를 바탕으로 재광화 군간의 비교를 SAS 9.1.2을 통해 One-way Analysis of Variance (ANOVA)로 통계처리하고 Least Significant Difference (LSD)를 이용하여 사후 검정하였다.

Ⅲ. 실험 결과

1. 편광현미경 관찰 조건

1) 법랑질 탈회 조건 (Figure 2, 4, 6)

편광현미경하에 증류수를 침윤시켜 100배로 관찰한 결과, 법랑질 초기 우식 병소의 특징인 건전 표층 (surface zone)과 표층하 병소 (subsurface lesion)를 관찰할 수 있었다. 대부분의 시편에서 건전 표층은 비교적 연속적으로 관찰되었고, 정상 법랑질과 같은 음성 복굴절을 보였다. 표층하 병소는 황갈색으로 양성 복굴절 양상을 보이고, 중앙부에서 병소 외곽으로 퍼져나가는 양상으로 관찰되었다. 병소 중앙부는 병소 외곽보다 뚜렷한 양성 복굴절 양상을 보였다. 병소 본체에서는 정상 법랑질에 비해 Retzius 선조가 뚜렷하게 관찰되었다. Retzius 선조는 더 진한 갈색을 띠며, 병소 하방 최외곽 부위는 Retzius 선조를 따라 진행되어 톱날 형태를 형성하였다.

2) 법랑질 재광화 소견

(1) Group 1의 재광화 소견 (Figure 3)

재광화가 진행됨에 따라 탈회 시편에 비해 건전 표층이 뚜렷해지고 연속성이 증가하였지만, 전체 탈회 깊이가 증가하였다. 몇몇 시편에서는 표층하 병소내에 isotropic zone이 관찰되었고, 병소 내부에 전반적으로 재광화가 진행되는 양상을 관찰할 수 있었다.

(2) Group 2의 재광화 소견 (Figure 5)

2군 역시 재광화가 진행됨에 따라 1군과 비슷하게 건전 표층이 더 뚜렷해지고 연속성이 증가하였고, 전체 탈회 깊이가 역시 증가하였다. 표층하 병소의 상층부에서는 탈회가 더 진행되는 양상을 보였으나, 표층하 병소의 하층부에서는 재광화가 진행되는 양상을 관찰할 수 있었다. 1군과 달리 isotropic zone은 관찰되지 않았다.

(3) Group 3의 재광화 소견 (Figure 7)

재광화가 진행됨에 따라 건전 표층이 더욱 뚜렷해지고, 1, 2군에 비해 건전 표층의 폭이 증가하는 양상을 보였다. 전

체 탈회 깊이가 역시 증가하였고 표층하 병소의 상층부에서는 탈회가 더 진행되는 양상을 보였으나, 표층하 병소의 하층부에서는 재광화가 진행되는 양상이 관찰되었다.

(4) 포화도 차이에 따른 Group 1, 2, 3 간의 비교 (Table 3)

실험군 모두에서 재광화 후 전체 탈회 깊이가 증가하였는데, 포화도에 따른 전체 탈회 깊이 변화율은 1군은 $115.1 \pm 11.4\%$, 2군은 $112.6 \pm 7.9\%$, 3군은 $111.4 \pm 6.5\%$ 로 1, 2, 3군간의 통계적 유의차는 없었다. 건전 표층의 폭의 변화율 (Fig. 8)은 1군에서 $103.9 \pm 7.9\%$, 2군에서는 $114.6 \pm 2.9\%$, 3군에서 $135.2 \pm 13.4\%$ 로 1군과 3군의 결과가 통계적으로 유의차가 있는 것으로 나타났다 ($P < .05$). 2군의 값은 1군과 3군의 중간값을 보이며 1군, 3군과의 통계적 유의차는 없었다. 포화도가 가장 작은 1군에서는 재광화 양상이 탈회부위에 전반적으로 보이는 반면, 포화도가 높은 2, 3군에서는 건전 표층과 표층하 병소의 하층부에서 재광화 양상이 관찰되었고, 표층하 병소의 상층부에서는 탈회가 더 진행된 것이 관찰되었다.

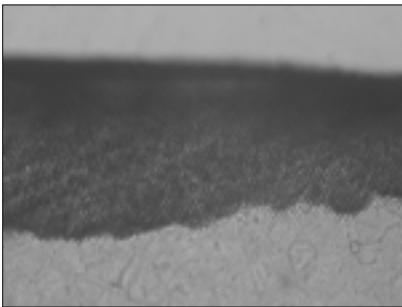


Figure 2. Polarizing microscopic observation of demineralized enamel (Group1, × 100)

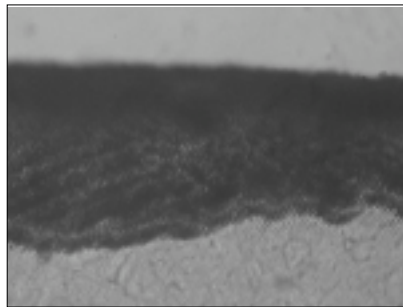


Figure 3. Polarizing microscopic observation of remineralized enamel (Group1, × 100)

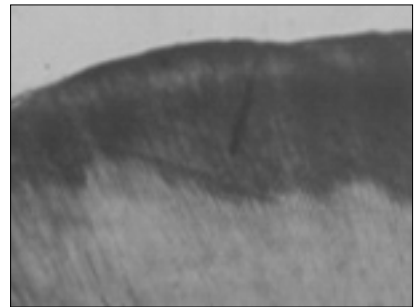


Figure 4. Polarizing microscopic observation of demineralized enamel (Group 2, × 100)

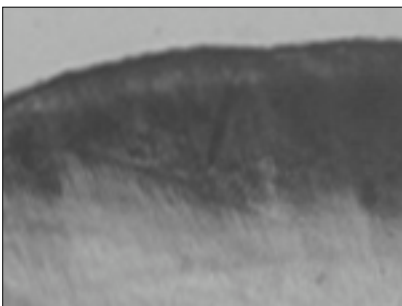


Figure 5. Polarizing microscopic observation of remineralized enamel (Group 2, × 100)

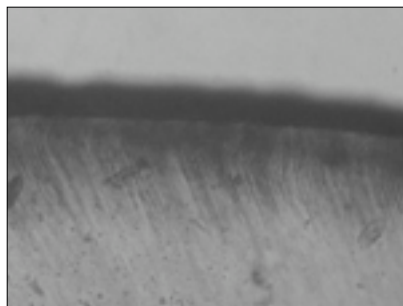


Figure 6. Polarizing microscopic observation of demineralized enamel (Group 3, × 100)

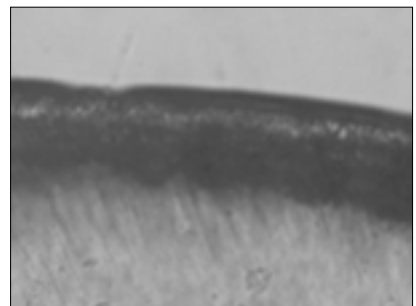


Figure 7. Polarizing microscopic observation of remineralized enamel (Group 3, × 100)

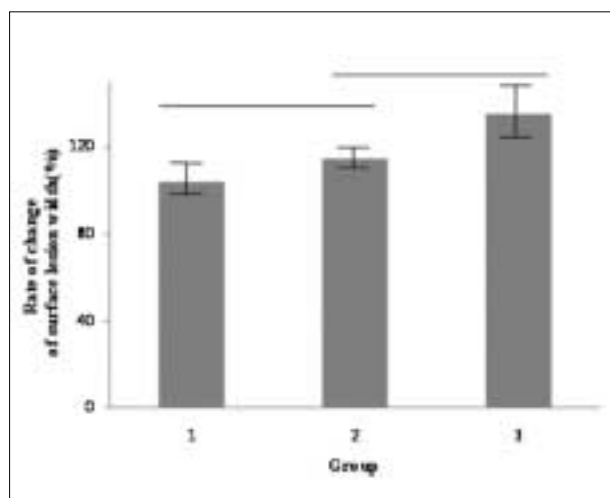


Figure 8. Rate of change of surface lesion width at Group 1, 2, 3 ((width of surface lesion after remineralization / width of surface lesion before remineralization) × 100(%)). Horizontal bars represent no statistically significant differences ($P > .05$).

Table 3. Rate of change of quantitative value during demineralization & remineralization at enamel

Condition	Demineralized	Surface lesion	Mineral
	Depth (%)	Width (%)	Change (%)
Group	(Mean ± S.D.)	(Mean ± S.D.)	(Mean ± S.D.)
1	115.1 ± 11.4%	103.9 ± 7.9%	109.8 ± 3.8%
2	112.6 ± 7.9%	114.6 ± 2.9%	
3	111.4 ± 6.5%	135.2 ± 13.4%	

* $P < .05$

2. Image program을 이용한 분석

1) 법랑질 탈회 조건

표층하 병소는 정상 법랑질에 비해 낮은 mineral density 를 보였고 정상 법랑질쪽으로 갈수록 mineral density 가 증가하였다. 건전 표층은 표층하 병소에 비해 높은 mineral density 를 보였으나 정상 법랑질에 비해서는 낮은 mineral density 를 보였다.

2) 법랑질 재광화 조건

(1) Group 1의 재광화 조건 (Figure 9)

탈회시 mineral density 그래프와 재광화 후 mineral density 그래프를 중첩한 결과, 탈회 조건에 비해 재광화 후 건전 표층과 표층하 병소에 전반적으로 이온이 침착되어 mineral density 가 높아진 것을 관찰할 수 있었다.

(2) Group 2, 3의 재광화 조건 (Figure 10, 11)

탈회시 mineral density 그래프와 재광화 후 mineral density 그래프를 중첩한 결과, 탈회 조건에 비해 재광화 후 건전 표층의 mineral density 가 높아져서 이온의 침착이 일어난 것을 알 수 있었다. 표층하 병소의 상층부에서는 오히려 탈회가 진행되어 mineral density 가 낮아졌으나, 표층하 병소의 하층부에서는 이온의 침착이 일어나 mineral density 가 증가하였다.

(3) 포화도의 차이에 따른 group 1, 2, 3 간의 mineral density 변화율 비교 (Table 3)

Figure 9, 10, 11에서 탈회시 그래프와 재광화 후 그래프의 상대적 면적비를 mineral density 변화율로 환산하여 계산한 결과, 재광화 후 각 군의 mineral density 변화율은 1군은 109.8 ± 3.8 %, 2군은 101.9 ± 2.2 %, 3군은 102.7 ± 4.7 %로 세군 모두에서 mineral density 증가를 보였지만 1, 2, 3군간의 통계적 유의차는 없었다.

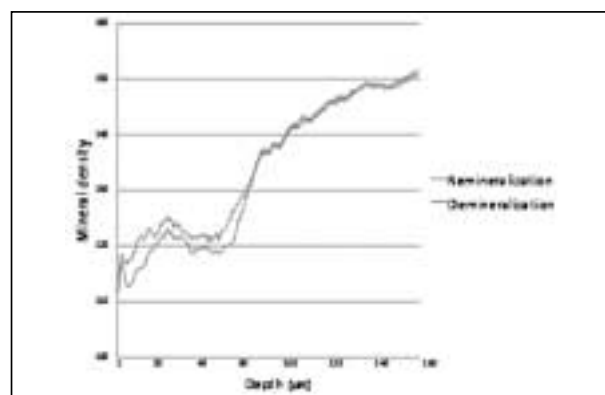


Figure 9. Comparison of mineral density in enamel before and after remineralization (Group 1)

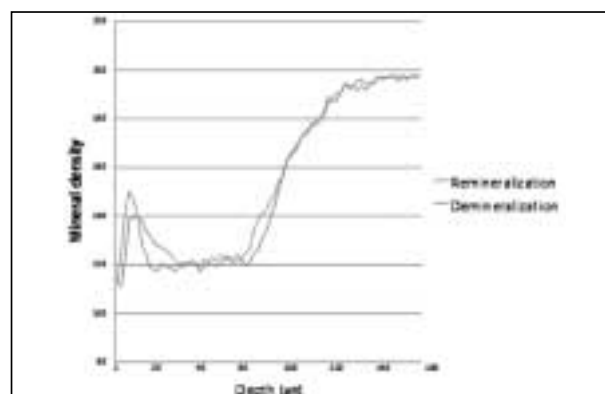


Figure 10. Comparison of mineral density in enamel before and after remineralization (Group 2)

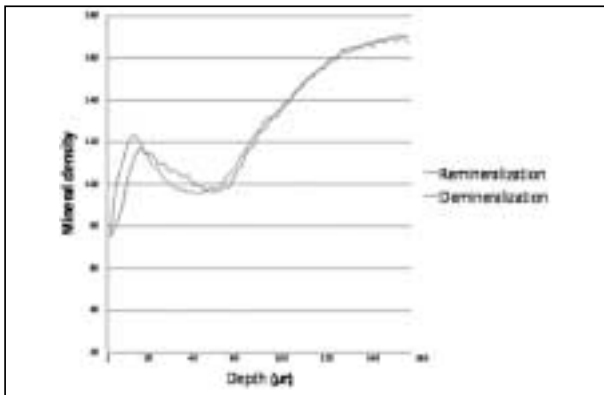


Figure 11. Comparison of mineral density in enamel before and after remineralization (Group 3)

IV. 총괄 및 고찰

재광화에 대한 pH의 영향에 대해서 많은 연구가 있었으나 아직 많은 의견들이 있다. Featherstone 등^{13,14)}은 재광화에 있어 최적의 pH는 무기질의 침착이 가능하며 법랑질의 용해가 일어나지 않는 pH 6 - 8정도라고 하였다. Margolis 등¹⁵⁾은 1 ppm의 불소가 포함된 탈회용액과 중성 용액에 노출된 법랑질을 검사한 결과 탈회용액에 처리시 총 광물질의 손실이 관찰되지 않았고 법랑질의 불소함유량이 증가한데 반해, 중성 용액에 처리시 전혀 불소의 유입이 관찰되지 않았음을 보고하였다. 이는 재광화에 있어 산성 용액이 중성 용액보다 효과가 있음을 의미하는 것이다. Theuns 등¹⁶⁾은 pH는 표층의 우식 형성에는 영향을 주지 않고 탈회 진행속도에 영향을 미쳐 pH가 낮을수록 탈회가 더 빠르게 진행된다고 하였고 병소자체에는 미세한 효과를 미친다고 하였다. Nikiforuk 등^{17,18)}은 치아 우식 유발 미생물 중 가장 큰 역할을 하는 *Streptococcus mutans*에 의해 sucrose가 분해되어 lactic acid가 형성되면 이 산에 의해 pH가 4.3까지 떨어진다고 하였다. Lammer 등¹⁹⁾에 의하면 pH는 낮은 농도의 불소 이온을 포함하는 용액에서만 재광화 효과가 크고 높은 농도의 불소 이온을 포함하는 용액에서는 완충용액의 pH 효과가 차이가 없다고 하였다. 박 등²⁰⁾은 pH가 낮을 경우 이온화되지 않은 산이 많아져 법랑질의 표면을 통과하는 양이 증가하여 병소의 진행을 빠르게 한다고 하였다. 김 등²¹⁾에 의하면 법랑질에서는 pH가 4.5인 경우보다 5.5인 경우에 더 많은 재광화를 관찰할 수 있다고 보고하였다. 이처럼 칼슘과 인이 과포화된 용액의 ion activity product는 pH에 따라 달라지게 된다.

본 실험에서는 유산 완충용액의 pH를 4.3으로 일정하게 한 뒤 포화도에 변화를 주면서 재광화 양상을 관찰하였는데, 이는 권 등²²⁾에 의하면 재광화 실험에서 pH 6에서는 무기질의 침착이 표층 부위에 국한되어 일어났고, pH 4.3에

서는 건전 표층과 병소 심층부에서 무기질 침착이 관찰되었기 때문이다. 따라서 이번 실험에서는 탈회의 과정과 동시에 탈회된 병소의 심층부에 무기질이 침착되는 효과를 보기 위해 일반적인 용액보다 산성의 조건을 형성하였다.

우식 병소의 재광화에 불소가 미치는 영향에 관해서 많은 연구가 이루어져 왔다. Nancollas & Purdie²³⁾는 solid-solution interface의 반응성은 용액의 pH 변화에 의해 영향을 받으며 불소 이온의 첨가는 탈회-재광화 평형에 도달하기 위해 필요한 칼슘, 인, 수소 이온의 농도를 낮춘다고 하였다. ten Cate 등²⁴⁾은 1 ppm 불소 첨가시 fluoroapatite 침착에 의해 불소가 없는 경우보다 2배 이상 재광화가 일어났다고 보고하였고, 반면 Lammers 등¹⁹⁾은 2 ppm 불소 첨가시 fluoroapatite의 표면 침착에 의해 무기질의 심부 이동이 차단되어 불소가 없는 경우보다 재광화가 억제됨을 보고하였다. Varughese 등²⁵⁾은 0.1 - 2 ppm 불소 첨가시 fluoroapatite 결정 성장이 촉진된다고 하였으나 Amjad & Nacollas²⁶⁾는 0.1 - 1 ppm 불소가 포함된 경우에는 재광화가 방해된다고 보고하였다. 한 등²⁷⁾은 법랑질 재광화에 불소 농도가 미치는 영향을 평가한 실험에서 1, 2, 4 ppm 중 2 ppm 에서 심부까지 불소가 침착되어 재광화가 잘 일어난 것을 보고하였다. 본 실험에서도 이를 참고하여 재광화 용액의 불소 농도를 2 ppm으로 정하였다.

재광화에 필요한 시간에 대한 연구에서 Silverstone 등²⁸⁾은 법랑질 우식에서 재광화 현상을 관찰한 결과 처음 4일간 주된 변화가 일어나고 10일 이후에는 더 이상 변화가 일어나지 않음을 보고하였고, 불소를 이용하여 재광화 실험을 한, 한 등²⁷⁾은 처음 4일간 재광화가 주로 일어났고 그 이후 느린 속도로 계속 진행되었다고 보고하였다. 따라서 이번 실험에서 탈회 기간은 4일로, 재광화 기간은 10일로 정하고 일정한 양의 이온 공급을 위하여 재광화 용액을 2일마다 교체하였다. 본 실험에서 편광현미경으로 관찰시 대부분의 시편에서 재광화 현상이 재광화 기간 초반부터 처음 4, 5일간 주로 일어났으며 그 뒤에는 느리게 진행되었다.

재광화 연구에 사용되는 실험 평가 방법으로 X-ray diffraction study¹²⁾, 전자현미경²⁹⁾, 시편의 미세 경도를 측정하는 방법³⁰⁾, 미세 용해도 검사, Microradiography³¹⁾, 편광현미경을 이용한 관찰³²⁾, electron probe micro-analysis³¹⁾를 이용한 이온의 정량적 분석 방법 등이 있다. 편광현미경을 이용할 경우 탈회된 각 층의 입자의 성질에 따라 복굴절이 달라져 병소의 진행에 따른 층의 구별이 가능하고 병소의 깊이 측정이 가능하다. 또 Microradiography에서 나타나는 상아질 교원섬유의 수축에 의한 영향을 줄일 수 있으며, Microradiography보다 치근에서 백악질과 상아질의 구별이 용이하다. 그러나 실제 무기질의 소실을 정량적으로 분석하는 것은 불가능하고 재광화가 일어난 경우 부위에 따라 광물질의 소실과 침착이 어느 정도 일어났는지를 비교할

수 없다는 단점이 있다. 따라서 이러한 단점을 보완하고자 이번 실험에서는 편광현미경으로 관찰한 시편을 디지털 카메라로 촬영하고 Scion Image analyzer를 이용하여 촬영한 상의 흑화도를 측정하고 표준화하여 촬영시의 오차를 보정한 후, 흑화도 그래프의 면적을 이용하여 각 군의 재광화 정도를 비교하였다.

재광화의 진행 양상은 우식 병소의 전체 폭이 감소하는 소견과 건전 표층 폭의 증가로 관찰되는데, 많은 연구에서 탈회가 적게 일어난 병소의 가장자리부터 무기질이 침착되어 재광화되는 양상이 보고되었다. 조직학적으로 건전 표층은 1 - 5%, 표층하 병소의 가장자리는 5%, 병소 자체는 25% 정도의 세공이 공간을 차지하는데, 무기질이 침착됨에 따라 세공이 차지하는 비율이 적은 가장자리부터 먼저 세공이 감소하면서 변화를 보이고, 표층하 병소에서도 세공의 공간이 작았던 부위부터 무기질이 침착하면서 세공의 부피가 감소하여 isotropic zone이 증가하는 양상을 보인다. Isotropic zone은 Daling 등³³⁾에 의해서도 보고되었는데 물을 용매로 편광현미경 하에서 관찰시 5% 보다 적은 공간 존재시에는 음성 복굴절 또는 고유 복굴절로 관찰되고, 5%의 공간이 존재하는 경우 isotropic zone으로, 5%보다 많은 공간이 있는 경우는 양성 복굴절로 관찰된다고 하였다. Silverstone 등³⁴⁾도 이러한 isotropic zone이 재광화가 일어나면서 우식 병소의 가장자리에서 법랑질 표면쪽으로 급격히 증가함을 보고하였는데, 양성 복굴절의 우식 병소가 이러한 isotropic zone을 거쳐 음성 복굴절의 정상 법랑질로 재광화됨을 의미한다고 하였다. 이 실험에서도 재광화 후에 Group 1에서 전형적인 isotropic zone을 관찰할 수 있었다.

재광화 후 실험군 모두에서 전체 탈회 깊이가 증가하였는데, 이는 재광화 용액의 pH가 4.3으로 법랑질 탈회의 임계 pH 5.5보다 낮은 조건이기 때문에 발생한 것으로 여겨진다. 건전 표층 폭의 변화율 (Table 3, Fig. 8)을 보면 포화도가 증가함에 따라 건전 표층 폭의 변화율이 증가하는 양상으로, 포화도가 증가함에 따라 표층에 가까운 쪽에 무기질이 침착되는 양상을 보인 박 등¹¹⁾의 실험과 비슷한 결과를 보였다.

재광화 후 mineral density 변화를 분석한 결과, 각 군간의 통계적 유의차는 없었으나 모든 군에서 탈회 시편에 비해 병소부위의 전체 무기질 양이 증가하였다. 박 등¹¹⁾의 실험에서 재광화 용액의 포화도가 증가함에 따라 침착되는 무기질의 양도 비례하여 증가하는 양상을 관찰할 수 있었던 것과 달리 본 실험에서는 각 군간에 차이가 없었다. 이는 1군에서는 건전 표층 부위에 재광화 정도가 크지 않았으나 우식 병소 전반적으로 이온 침착이 일어났고, 2, 3군에서는 건전 표층에서 이온침착이 많이 일어난데 반해 표층하 병소의 상층부에는 탈회가 더 진행되었기 때문에 세 군간의 무

기질 변화량이 비슷하게 나온 것으로 추측된다.

이 실험 결과에서 주목할 만한 사항은 포화도가 증가할수록 건전 표층에서 재광화 현상이 뚜렷해지고 두께가 증가하는 양상을 보였다는 점이다. 포화도가 가장 작은 1군에서는 재광화 양상이 우식 병소 부위에 전반적으로 관찰되었다. 이는 낮은 포화도에서 이온의 이동속도가 느리고 수산화인회석 결정의 형성이 느려 병소 전체에서 재광화가 일어난다고 보고한 박 등²⁰⁾의 실험 결과와 일치한다. 반면 포화도가 높은 군에서는 표층하 병소의 상층 부위에서는 탈회가 더 진행되는 것이 관찰되었는데, 이는 포화도가 증가할수록 건전 표층에 침착된 무기질이 많아져 지속적인 불소 이온의 병소 내부로의 이동을 방해하기 때문에 오히려 탈회가 일어난 것으로 추측된다. 이를 바탕으로 건전 표층의 증가가 재광화에 중요한 영향을 미친다는 것을 알 수 있다.

본 실험 결과에서 재광화 용액의 pH를 4.3으로 했지만 재광화 용액에 불소를 첨가하고 포화도를 높인 결과 재광화 현상이 표층뿐 아니라 심부에서도 관찰되었고 시간이 지남에 따라 재광화 부위의 폭이 넓어지는 현상을 관찰할 수 있었다. 하지만 본 실험에서 다른 이전의 실험에 비해 재광화 양상이 적게 나타났다. White 등³⁵⁾은 재광화 속도가 탈회 정도가 증가할수록 약간 감소한다고 보고하였는데 이는 병소의 깊이가 더 깊게 형성된 경우 이온의 이동 속도와 결정의 형성이 더 느려지기 때문이라고 하였다. 또한, 김 등²¹⁾은 전체적으로 병소가 깊었던 시편에서 깊이가 얇은 시편보다 재광화의 정도가 적고 속도도 느리게 나타났다고 보고하였다. 전의 실험에서는 시편의 전체 탈회 깊이가 50 - 100 μm 정도였는데, 이번 실험에서는 재광화 용액에 시편을 담그기 전의 탈회 깊이가 이미 100 - 150 μm 로 앞선 실험들에 비해 더 깊게 형성되어 이온의 이동속도와 결정의 형성이 더 느려져 재광화 현상이 적게 나타난 것으로 추측된다.

이번 실험에서 편광현미경 관찰과 mineral density 변화를 분석한 결과, pH 4.3으로 인하여 이온이 침투하는 깊이와 양은 비슷하지만, 포화도가 클수록 건전 표층에 침투하는 이온의 양이 많기 때문에 표층하 병소에 침투하는 이온의 양은 더 적어져 위와 같은 결과를 나타낸 것으로 여겨진다. 따라서 pH 4.3인 재광화 용액에서는 우식 병소 부위에 전반적인 재광화를 유도하기 위해서는 Group 1처럼 포화도가 낮아야 할 것으로 생각된다. 하지만 모든 군에서 재광화 용액 처리후에 전체 탈회 깊이가 증가하였기 때문에 더 이상의 법랑질의 탈회를 유도하지 않기 위해서는, 김 등²¹⁾의 실험에서 알 수 있듯이 pH가 4.3보다 더 높은 경우에서 전체 탈회 깊이의 증가없이 더 많은 재광화를 기대할 수 있을 것으로 생각된다.

이번 실험에서 표본간의 오차를 줄이기 위해, 수집한 여러 치아에서 나온 시편들을 세 실험군에 골고루 분포하도록 배정하였다. 하지만 동일한 실험조건하에서 형성된 인공 우식

이라 할지라도 치아에 따라 혹은 같은 치아 내에서도 부위에 따라 약간씩 차이가 나타나기도 하는데 이러한 현상은 치령, 구강내 존재시 환경의 차이, 식이 습관, 불소 도포, 법랑질 조성의 차이때문이다. 따라서 표본간의 변위를 줄이는 작업이 필요한데 이를 위해서는 실험치아의 수거시 연령층, 상수도 불소화 지역, dental history (불소도포 유무), 치아 (전치, 소구치, 구치)종류에 따라 분류, 수집하여 비교 분석하고 가능하면 동일한 피검자의 치아를 이용하여 비교, 평가하는 작업이 필요하리라 사료된다.

이번 실험에서는 재광화 용액의 포화도만 변화시켰지만 앞으로 pH, 용액의 농도, 불소의 농도를 변화시켜 재광화에 미치는 영향에 대한 연구가 필요할 것으로 보이며, 이러한 작업 후에는 재광화 용액의 농도를 하나로 일정하게 하는 것이 아니라 연속적으로 변화시키면서 심층에서 표층으로 재광화가 연속적으로 일어날 수 있는 조건을 찾아야 할 것으로 생각된다.

V. 결 론

이 연구에서는 유산 완충 탈회용액을 이용하여 법랑질 시편을 인공 탈회시킨 후, pH 4.3에서 포화도를 0.22, 0.30, 0.35로 달리한 세가지 재광화 용액에 10일간 처리하여 나타나는 변화를 관찰하였다.

1. 재광화 후 모든 군에서 건전 표층의 폭이 증가하였는데, 포화도가 낮은 1군에 비해 포화도가 높은 3군에서 유의하게 건전 표층 폭의 증가를 보였다 ($P < .05$).
2. 재광화 후 mineral density 변화를 관찰한 결과, 1군에서는 이온의 침착이 건전 표층부터 표층하 병소까지 전반적으로 일어나 mineral density가 증가하였다. 2, 3군에서는 건전 표층 부위와 표층하 병소의 하층부에서는 이온의 침착으로 mineral density가 증가하였고, 표층하 병소의 상층부에서는 이온의 소실로 mineral density가 감소하였다.

결론적으로 인공 탈회된 시편을 pH 4.3인 재광화 용액에 처리시 포화도가 높을수록 건전 표층에서 더 많은 재광화 현상이 일어났고 표층하 병소에서는 재광화 현상이 적게 일어났다.

참고문헌

1. Featherstone JDB, Duncan JF, Cutress TW. A Mechanism for dental caries based on chemical process and diffusion phenomena during in-vitro caries simulation on human tooth enamel. *Arch Oral Biol* 24:101-112, 1979.
2. Margolis HC, Moreno EC. Physicochemical perspectives on the cariostatic mechanisms of systemic and topical fluorides. *J Dent Res* 69:606-613, 1990.
3. Head JA. A study of saliva and its action on tooth enamel in reference to its hardening and softening. *J Am Med Assoc* 59:2118-2122, 1912.
4. Anderson BG. Clinical study of arresting dental caries. *J Dent Res* 17:443-452, 1938.
5. Backer, Dirks O. Posterupted changes in dental enamel. *J Dent Res* 45:503-511, 1966.
6. ten Cate JM, Jongebloed WL, Arends J. Remineralization of artificial enamel lesions in vitro. IV. Influence of fluorides and diphosphates on short and long term remineralization. *Caries Res* 15:60-69, 1981.
7. Margolis HC, Murphy BJ, Moreno EC. Development of carious-like lesions in partially saturated lactate buffers. *Caries Res* 19:36-45, 1985.
8. Margolis HC, Moreno EC. Kinetic and thermodynamic aspect of enamel demineralization. *Caries Res* 19:22-35, 1985.
9. Moreno EC, Zahradnik RT. Chemistry of enamel subsurface demineralization in vitro. *J Dent Res* 53:226-235, 1974.
10. 이찬영. 산 완충 용액을 이용한 인공 치아 우식 형성. *연세치대 논문집* 7:34-41, 1992.
11. 박정원, 허복, 이찬영. 유기산 완충 용액의 포화도가 법랑질 및 상아질의 재광화에 미치는 영향과 산화 인회석의 AFM 관찰. *대한치과보존학회지* 25:459-473, 2000.
12. Aoba T, Okazaki M, Takahashi J, Moriwaki Y. X-ray diffraction study on remineralization using synthetic hydroxyapatite pellets. *Caries Res* 12:223-230, 1978.
13. Featherstone JDB, Møller JR. Relative rates of progress of artificial caries lesions in bovine, ovine and human enamel. *Caries Res* 15(1):109-114, 1981.
14. Featherstone JDB, Rodgers BE, Smith MW. Physicochemical requirements for rapid remineralization of early carious lesions. *Caries Res* 15:221-235, 1981.
15. Margolis HC, Moreno EC, Murphy BJ. Effect of low levels of fluoride in solution on enamel demineralization. *J Dent Res* 65:23-29, 1986.
16. Theuns HM, van Dijk JWE, Driessens FCM, Groeneveld A. Effect of the pH of buffer solution on artificial carious lesion formation in human tooth enamel. *Caries Res* 18:7-11, 1984.
17. Nikiforuk G. Formation, structure and metabolism of dental plaque. Understanding dental caries Vol. 1 Etiology and Mechanism:119-157, Karger, Basel and New York, 1985.
18. Nikiforuk G. The use of topical fluoride. Understanding dental caries Vol. 11. Prevention:63-86, Karger, Basel and New York, 1985.
19. Lammers PC, Borggreven JPM, Driessens FCM. Influence of fluorid on in vitro remineralization of artificial subsurface lesions determined with a sandwich technique. *Caries Res* 24:81, 1990.
20. 박성호, 이찬영, 이정석. 유산 완충액을 이용한 인공 치아 우식의 형성에 미치는 산의 농도와 pH에 관한 연구. *대한치과보존학회지* 18:277-290, 1993.
21. 김민경, 금기연, 이찬영. 법랑질 인공우식의 재광화에 미치는 pH의 영향에 관한 연구. *대한치과보존학회지* 22:193-208, 1997.
22. 권중원, 이찬영. 완충 용액의 유산 농도와 pH가 법랑질의 재광화에 미치는 영향. *연세대학교 대학원 치의학과 박사학위논문* 2006.
23. Nancollas GH, Purdie N. The kinetics of crystal growth. *Quart Rev* 18:1-20, 1964.

24. ten Cate JM, Arends J. Remineralization of artificial enamel lesions in vitro. *Caries Res* 11:277, 1977.
25. Varughese, Moreno EC. Crystal growth of calcium apatites in dilute solutions containing fluorides. *Calcified tissue International* 33(4):431-439, 1981.
26. Amjad Z, Nancollas GH. Effect of fluoride on the growth of hydroxyapatite and human dental enamel. *Caries Res* 13:250-258, 1979.
27. 한원섭, 금기연, 이찬영. 인공 치아 우식의 재광화에 미치는 불소의 영향. *대한치과보존학회지* 21:161-173, 1996.
28. Silverstone LM. Remineralization phenomena. *Caries Res* 11:59-84, 1977.
29. Haikel Y, Frank RM, Voegel JC. Scanning electron microscopy of the human enamel surface layer of incipient caries lesions. *Caries Res* 17(1):1-13, 1983.
30. Featherstone JDB. Comparison of artificial caries like lesions by quantitative microradiography and microhardness profiles. *Caries Res* 17:385-391, 1983.
31. Groeneveld A, Jongebloed W, Arends J. The mineral content of decalcified surface enamel. A combined microprobe-quantitative microradiography study. *Caries Res* 8(3):267-274, 1974.
32. Darling AI. Studies of the early lesion of enamel caries with transmitted light, polarized light and radiography. *Brit Dent J* 6:289-341, 1956.
33. Darling AI. Studies of the early lesion of enamel caries its nature, mode of spread and points of entry. *Brit Dent J* 8:119-135, 1958.
34. Silverstone LM, Wefel JS, Zimmerman BF, Clarkson BH, Featherstone MJ. Re-mineralization of natural and artificial lesions in human dental enamel in vitro effect of calcium concentration of the calcific fluid. *Caries Res* 15:138-157, 1981.
35. White DJ, Chen WC, Nancollas GH. Kinetic and physical aspects of enamel remineralization-A constant composition study. *Caries Res* 22:11-19, 1988.

국문초록

PH 4.3에서 재광화 용액의 포화도에 따른 인공 탈회된 법랑질의 동력학적 변화

이지숙 노병덕 신수정 이윤 공형규 이찬영*

연세대학교 대학원 치의학과 치과 보존학교실

법랑질의 재광화에 영향을 주는 요인으로는 pH, 불소 농도, 포화도 등이 있다. 본 연구에서는 유산 완충 탈회용액을 이용하여 법랑질 시편을 인공 탈회시킨 후, pH 4.3에서 포화도를 0.22, 0.30, 0.35로 달리한 세가지 재광화 용액에 10일간 처리하여 나타나는 변화를 편광현미경으로 관찰하여 전체 탈회 깊이와 건전 표층 폭의 변화를 조사하였다. 또한 Image program (Scion Image analyzer)을 이용하여 병소 부위의 평균 mineral density 를 측정하여 탈회와 재광화 후 무기질 변화량을 통해 인공 탈회된 법랑질의 동력학적 변화를 관찰하였다.

1. 재광화 후 모든 군에서 건전 표층의 폭이 증가하였는데, 포화도가 증가할수록 건전 표층 폭이 증가하였다 ($P < .05$).
2. 재광화 후 mineral density 변화를 관찰한 결과, 포화도가 낮은 군에서는 이온의 침착이 병소 전반적으로 일어났으나, 포화도가 높은 군에서는 건전 표층 부위와 표층하 병소의 하층부에서 이온의 침착으로 mineral density 가 증가하였고 표층하 병소의 상층부에서는 탈회가 진행되어 mineral density 가 감소하였다.
3. 재광화 후 모든 군에서 무기질량이 증가하였고 전체 탈회 깊이도 증가하였으나 각 군간에 통계적 유의차는 없었다.

본 실험에서 인공 탈회된 시편을 pH 4.3인 재광화 용액에 처리시 포화도가 높을수록 건전 표층에서 더 많은 재광화 현상이 일어났고 표층하 병소에서는 재광화 현상이 적게 일어났으며, 재광화 후 모든 군에서 전체 탈회 깊이는 증가하였다.

주요단어 : 법랑질, 탈회, 재광화, pH, 포화도, 흑화도