

유기산 완충용액의 불소농도가 상아질의 재광화에 미치는 영향

한원섭 · 이찬영*

연세대학교 치과대학 치과보존학교실

ABSTRACT

THE EFFECTS OF THE FLUORIDE CONCENTRATION OF ACIDULATED BUFFER SOLUTIONS ON DENTINE REMINERALIZATION

Won- Sub Han, Chan-Young Lee*

Department of Conservative Dentistry, Yonsei University, Seoul, Korea

The aim of this vitro-study is to evaluate the effects of fluoride on remineralization of artificial dentine caries. 10 sound permanent premolars, which were extracted for orthodontic reason within 1 week, were used for this study. Artificial dentine caries was created by using a partially saturated buffer solution for 2 days with grounded thin specimens and fractured whole-body specimens. Remineralization solutions with three different fluoride concentration (1 ppm, 2 ppm and 4 ppm) were used on demineralized-specimens for 7 days. Polarizing microscope and scanning electron microscope were used for the evaluation of the mineral distribution profile and morphology of crystallites of hydroxyapatite.

The results were as follows :

1. When treated with the fluoride solutions, the demineralized dentine specimens showed remineralization of the upper part and demineralization of the lower part of the lesion body simultaneously.
2. As the concentration of fluoride increased, the mineral precipitation in the caries dentine increased. The mineral precipitation mainly occurred in the surface layer in 1 and 2 ppm-specimens and in the whole lesion body in 4 ppm-specimens.
3. When treated with the fluoride solution, the hydroxyapatite crystals grew. This crystal growth was even observed in the lower part of the lesion body which had shown the loss of mineral. [J Kor Acad Cons Dent 34(5):526-536, 2009]

Key words: remineralization, dentine, fluoride, Polarizing microscope, Scanning electron microscope

-Received 2009.9.8., revised 2009.10.23., accepted 2009.10.27.-

I. 서 론

치아 우식은 무기질 용해와 유기질 파괴로 치아손상을 일으키는 만성질환으로서 동통과 저작불능 등의 불편과 함께

경제적 손실을 준다. 치아 우식은 크게 청소년기에 많이 관찰되는 치관 우식과 노인층에서 많이 발생하는 치근 우식으로 구분되는데, 최근 들어서는 치관 우식의 유병률은 감소하였으나 치근 우식의 경우 평균 수명의 증가로 인한 치근 표면의 구강 내 노출이 많아져 발생빈도가 크게 증가하였다.

우식의 재광화 연구를 위해서는 우식의 진행 과정에 대한 이해가 필수적이지만 많은 연구가들의 계속적인 노력에도 불구하고 아직까지 확립된 이론이 없이 연구자에 따라 서로 다른 이론을 주장하였다. Featherstone¹⁾은 유기산이 이온

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

화 되지 않은 형태로 법랑질의 세공을 통해 확산되어 내부의 법랑질을 녹이고, 이렇게 녹은 무기물이 다시 이온화 되지 않은 형태가 되어 법랑질 밖으로 나오는 단순확산모델을 주장하였고 Margolis²⁾는 치아 우식의 과정이 단순한 탈회의 과정이 아니고 치태에서 만들어진 유기산이 법랑질의 세공을 통해 확산되는 과정에서 표면층의 초기용해와 무기질의 침착이 동시에 일어나는 탈회와 재광화가 반복되는 현상이라고 설명하였다.

이러한 우식의 진행 과정에 대한 연구와 함께 무기질 침착을 통하여 이미 형성된 초기 우식 병소를 재광화하려는 노력도 계속되었다. 약 60년 전, Dean 등³⁾이 불소의 항우식 효과를 관찰한 이후, 많은 연구가들이 불소를 이용하여 재광화를 촉진하기 위하여 노력하였으며 이러한 지속적인 노력을 통하여 조직내부 용액에 포함된 불소가 치아의 탈회를 감소시키고 재광화율을 증가시킨다는 사실을 확인하였다⁴⁾.

상아질과 법랑질은 구성과 미세구조의 차이를 가지고 있는 서로 다른 조직이다. 상아질이 살아있는 조직인데 반해 법랑질은 생물학적 활성을 가지고 있지 않다⁵⁾. 이러한 이유로 불소에 대한 두 조직의 반응에도 상당한 차이를 보인다. 법랑질에서의 연구를 살펴보면, 1-2 ppm 정도의 낮은 불소를 포함하는 재광화 용액으로 실험할 때 재광화율이 충분히 증가함을 보고한 많은 연구가 있다^{4,6)}. Varughese와 Moreno⁷⁾는 불소농도가 0.05 ppm 이상인 경우 법랑질 표면에서의 결정 성장을 향상시킨다고 보고하였고 한 등⁸⁾은 2 ppm의 불소농도가 법랑질의 재광화에 가장 효과적이며, 그 이상의 농도에서는 오히려 두꺼운 표면층의 형성으로 재광화에 방해가 된다고 보고하였다.

법랑질 재광화에 적합한 불소의 농도는 1에서 2 ppm 정도의 낮은 농도라는 사실이 많은 연구자의 동의를 받는데 반해, 상아질에서의 재광화에 효과적인 불소농도에 대한 연구는 아직 부족하고 이견이 많다. Kawasaki 등⁹⁾은 고농도의 불소는 법랑질에서와 마찬가지로 무기질함량이 높은 표면하병소의 과도한 무기질침착을 유도하여 깊은 병소의 효과적인 재광화를 방해한다고 주장하였으나, Arends 등⁵⁾은 0.02-10 ppm의 불소 농도에서 상아질의 재광화 실험을 시행했을 때 가장 높은 농도인 10 ppm에서 가장 많은 무기질 침착이 관찰됨을 보고하였다.

불소가 수산화인회석 결정에 미치는 영향에 대해서도 이미 많은 연구가 진행되었다. 일반적으로 법랑질의 무기질침착은 병소의 잔존결정의 재성장으로 예상하였다¹⁰⁾. 이에 반해 상아질의 경우 우식 과정에서 무기질의 탈회 뿐만 아니라 콜라겐기질의 가수분해성 붕괴를 포함하므로, 상아질의 재광화는 매우 복잡할 것으로 예측되었다⁵⁾.

이번 실험의 목적은 편광현미경과 주사전자현미경을 이용하여 불소농도가 상아질의 재광화 과정에 미치는 영향과 이

에 따른 수산화인회석 결정형태와 배열의 변화를 관찰하는데 있다.

Ⅱ. 실험재료 및 방법

1. 실험재료 및 시편제작

치아 우식 병소의 무기질 분포를 확인하기 위한 편광현미경 관찰과, 편광현미경에서 확인된 복굴절 정도가 다른 3개 층에서의 수산화인회석 결정의 형태와 배열을 확인하기 위한 주사전자현미경 관찰로 구별하여 연구를 시행하였다. 교정목적으로 일주일 이내에 발치한 소구치 10개를 아크릴 레진을 이용하여 치관 부위만 매몰하고 경화 후 low speed diamond wheel saw (Minitom, Struers, Denmark)를 이용하여 근접에서 5 mm 떨어진 위치에서 치아의 장축에 수직으로 절편을 만든 다음, 150 μ m 두께로 연마하였다. 연마된 시편을 입체현미경 (OPM-1, 동원, 대한민국)하에서 bonding agent (Scotchbond™ Multi-Purpose, 3M Dental Product, U.S.A) 와 nail varnish로 3-4 mm 정도의 window를 제외한 나머지 부위를 도포하였다.

전자현미경 관찰을 위한 시편제작은 편광현미경 관찰을 위한 시편제작 후 남은 치근을 이용하였다. 손상이나 균열이 없는 부위에 가로 5 mm, 세로 10 mm 정도의 window를 제외하고 nail varnish를 도포하였다.

2. Stock 용액의 제조

30% 유산용액 (Sigma Co., 분자량 90.09, 밀도 1.080) 부터 1 M의 용액을 제조하였다. 염화칼슘 분말 (Sigma Co., 분자량 147.0)로 부터 0.3 M의 용액을 제조하였고, 인산칼륨 분말 (Sigma Co., 분자량 136.1)로 부터 0.9 M의 인산칼륨용액을 제조하였으며 염화불소 분말 (Sigma Co., 분자량 41.99)로부터 100 ppm (5.2632 mM)의 용액을 제조하였다.

3. 탈회완충용액의 제조

탈회완충용액은 Calcium, Phosphate, lactic acid의 정확한 양을 stock solution에서 취한 후, pH를 4.3으로 조절하여 제조하였다. Ca^{2+} , PO_4^{3-} 이온농도를 자동분석기 (Hitachi 736-40, Hitachi, Japan)를 이용하여 정량 분석하였으며 Table 1은 탈회완충용액의 조성이다.

4. 재광화 완충용액의 제조

실험군으로 각각 불소농도가 1, 2, 4 ppm인 재광화 완충용액을 제조하였다. 재광화 완충용액은 각 군 당 필요한

Table 1. Composition of decalcification solution.

Composition	Concentration
Lactic acid (mM)	10
Calcium (mM)	15.6
Phosphate (mM)	9.5
Sodium azide (mM)	3.08
pH	4.3

Table 2. Composition of remineralization solution.

Composition	Concentration		
	Group1	Group2	Group3
Lactic acid (mM)	10	10	10
Calcium (mM)	28.5	28.2	28.6
Phosphate (mM)	9.5	9.7	9.4
Sodium azide (mM)	3.08	3.08	3.08
Fluoride (ppm)	1	2	4
pH	4.3	4.3	4.3

Calcium, Phosphate, lactic acid 및 Fluoride의 정확한 양을 stock solution으로부터 취한 후 pH를 4.3으로 조절하여 제조하였다. Ca^{2+} , PO_4^{3-} 이온농도를 자동분석기 (Hitachi 736-40, Hitachi, Japan)를 이용하여 정량 분석하였고 Table 2는 불소가 포함된 재광화 완충용액의 조성이다.

5. 인공 치아우식의 형성

50 cc 플라스틱 통에 완충액을 채우고 30개의 시편을 통의 중앙에 위치하도록 설치한 후 25℃ 항온조에 유지시켰다. 24시간 간격으로 증류수가 침윤된 상태에서 그 변화를 편광현미경을 통하여 관찰하였다. 24시간, 48시간 경과 후 대안렌즈에 있는 자를 이용하여 병소 깊이를 측정하여 기록한 후 이 상태를 사진으로 촬영하였다.

6. 인공 치아우식의 재광화

각 군당 10개의 50 cc 플라스틱 통에 완충액을 채우고 우식이 형성된 시편을 통의 중앙에 위치하도록 설치한 후 25℃ 항온조에 유지시켰다. 24시간 간격으로 7일간 증류수가 침윤된 상태에서 그 변화를 편광현미경을 통하여 관찰하였다. 병소의 깊이와 재광화 양상을 기록하였으며 이 상태를 사진으로 촬영하였다.

7. 주사전자현미경 관찰

준비된 9개의 50 cc 플라스틱 통에 앞서 만든 탈회완충액을 채우고 시편을 통의 중앙에 위치하도록 설치한 후 25℃ 항온조에 유지시켰다. 48시간 경과 후 시편을 완충액에서 꺼내 증류수에 세척한 후 치아 장축에 수직으로 osteotome과 mallet을 이용하여 치근을 파절시켰다. 이때 파절된 시편을 증류수에 24시간 담근 후 건조하여 보관하였고, 나머지 치근은 다시 파절면을 nail varnish로 도포하여 window만 노출되도록 한 후, 완충액을 넣은 50cc 플라스틱 통에 다시 넣고 25℃ 항온조에서 유지시켰다. 7일 후 시편을 완충액에서 꺼내 증류수에 세척한 후 치아 장축에 수직으로 osteotome과 mallet을 이용하여 치근을 파절시켰다. 이렇게 준비된 정상상아질시편 3개, 탈회시편 3개, 각군 당 3개씩 9개의 재광화시편 등 총 15개의 시편을 aluminium stubs에 고정시킨 후 진공상태에서 도금처리하여 주사전자현미경 (Hitachi, S-800, Japan)으로 관찰하였다.

III. 실험결과

1. 편광현미경 관찰

1 ppm군에서는 부위에 따라 재광화 및 탈회의 양상이 동시에 관찰되었다. 우식표면층에서의 재광화층의 폭은 재광화 1일의 5 μm 에서 재광화 7일의 20 μm 정도로 증가하여 2, 4 ppm군과 비교할 때 큰 차이가 없었다. 그러나 병소본체 상부의 경우 2, 4 ppm군에서는 음성복굴절로 관찰되는 이차적인 재광화 밴드의 형성이 활발한 데 비해 1 ppm군에서는 거의 관찰되지 않았다. 병소본체 하부의 경우에는 재광화보다 탈회가 진행되는 양상으로 관찰되었으며 양성복굴절이 진행되어 상아세관의 형태가 관찰되지 않았다. 병소전면과 연결되는 등방성을 나타내는 층의 존재도 시간의 경과와 함께 소실되는 양상으로 관찰되었으며 정상상아질보다 양성복굴절을 보이는 병소본체 하부는 시간의 경과에 따라 병소전면이 정상상아질 쪽으로 이동하여 전체병소 폭이 증가하였다 (Figure 1).

2 ppm군의 경우, 표면층과 병소본체 상부의 재광화 양상은 4ppm군과 비슷하게 활발하게 관찰되었다. 비록 초기에 전체 병소의 폭은 증가하였으나 뚜렷하게 양성복굴절을 보이던 병소본체 상부가 중심부로 향하여 축소되었고 그 사이에 상아세관과 수직방향으로 음성복굴절로 관찰되는 재광화 밴드가 형성되었다. 그러나 병소본체 하부에서는 1 ppm군과 마찬가지로 탈회의 양상이 우세하여 상아세관의 소실과 함께 양성복굴절이 증가하였다 (Figure 2).

4 ppm군의 경우 병소의 재광화가 제일 뚜렷하였다. 음성복굴절로 관찰되는 우식표면층은 시간의 경과와 함께 계속

증가하였다. 양성복굴절로 관찰되는 병소본체 상부에서는 음성복굴절을 띠는 밴드형태의 재광화층의 폭이 계속 증가하였고 음성복굴절로 관찰되는 톱니형태의 불규칙한 층이 기존 치근표면 위로 침착되는 것이 관찰되었다 (Figure 3).

2. 주사전자현미경 관찰

편광현미경에서 확인한 무기질 분포 양상에 따라 각각 표면층, 병소본체 상부층, 병소본체 하부층의 세 개의 층으로 나누어 주사전자현미경 관찰을 시행하였다. 병소상부에서는 무기질 침착의 양상이 뚜렷하였고 1, 2 ppm군의 병소본

체 하부에서는 탈회의 양상이 관찰되었다. 그러나, 이러한 탈회의 양상에서도 각각의 수산화인회석 결정의 크기는 15-25 nm로 정상상아질의 8-15 nm 보다 크게 관찰되었다. 무기질 침착이 과도하게 진행된 표면층에서는 구형의 결정집합이 관찰되었다.

(1) 1ppm군

치근 표면에서 50 μm 깊이까지 표면층이 관찰되었다. 이 층은 상아세관의 형태가 완전히 소실되었으며 10-30 nm정도 크기의 수산화인회석 결정이 빈 공간이 없이 배열되어 있었다. 이곳의 수산화인회석 배열구조는 정상 상아질에서 관

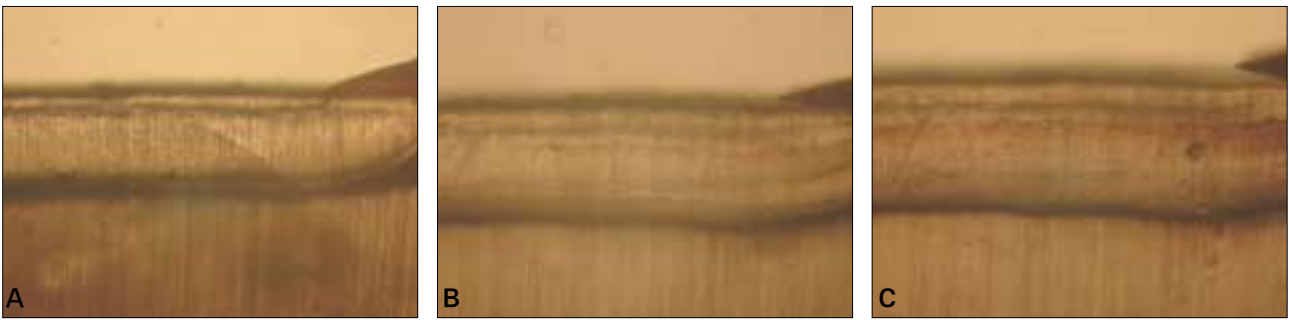


Figure 1. Representative polarizing light microscopic images of 1 ppm specimen ($\times 100$).
(A- remineralization 1day, B- remineralization 5day, C-remineralization 7day)



Figure 2. Representative polarizing light microscopic images of 2 ppm specimen ($\times 100$).
(A- remineralization 1day, B- remineralization 5day, C-remineralization 7day)



Figure 3. Representative polarizing light microscopic images of 4 ppm specimen ($\times 100$).
(A- remineralization 1day, B- remineralization 5day, C-remineralization 7day)

찰되는 스핀들 형태의 결정체가 관찰되지 않았고 수산화인회석 결정이 규칙 없이 전체 공간을 채우고 있었다 (Figure 4-A). 치근표면에서 50-160 μm 떨어진 위치에서 관찰되는 병소본체 상부층에서는 상아세관의 관찰이 어려웠다. 발견된 상아세관도 관주상아질에서 돌출된 구조로 반쯤 막혀 있는 경우가 많게 관찰되었다. 10,000배로 확대하여 관찰했을 때 표면에는 불규칙한 형태의 새로운 결정의 침착으로 대표되는 재광화 양상도 관찰되기도 하였으나 전체적으로는 결정들 사이에 무수히 많은 중앙부 결손이 폭 넓게 관찰되는 탈회 양상이 우세하였다 (Figure 4-B). 100,000배로 확대했을 때에는 관주상아질이 관간상아질과 뚜렷하게 구분되지 않았으며 수산화인회석결정의 크기도 큰 차이가 없었다 (Figure 7-B). 수산화인회석 결정의 크기는 정상상아질에서 많이 관찰되는 10-15 nm 정도의 결정보다 조금 큰 15-30 nm 정도로 각각의 구분이 명확하지 않고 합쳐져 있는 듯한 양상으로 관찰되었다. 치근 표면에서 160-300 μm 떨어진 위치에서 관찰되는 병소본체 하부층에서는 분명한 무기질 소실의 양상이 관찰되었다. Figure 4-C는 치근

표면에서 200 μm 떨어진 위치에서 촬영한 주사전자현미경 사진이다. 10,000배에서 관찰했을 때 유기기질로 만들어진 그물망과 같은 구조로 관찰되었다. 100,000배로 관찰했을 때 이러한 그물망은 서로 연결되어 있고 오각형의 마름모 형태가 제일 많았다. 상아세관은 뚜렷하게 구분되지 않았으며 관주상아질의 구별이 불가능하였다. 수산화인회석 결정은 15-30 nm 정도로 정상상아질보다 컸고 서로 융합되어 있는 양상으로 관찰되었다 (Figure 4).

(2) 2 ppm군

표면층은 1 ppm군과 비교했을 때 큰 차이가 없었다. 치근 표면에서 50-180 μm 떨어진 위치에서 관찰되는 병소본체 상부층에서는 100-500 nm의 지름을 갖은 원형 또는 타원형의 구조물이 관찰되었다 (Figure 5-A). 1 ppm군에서 뚜렷하게 관찰되는 탈회 소견인 결정들 사이에 무수히 많은 중앙부 결손이 그 빈도와 크기가 감소되었다 (Figure 5-B). 100,000배로 확대하여 관찰했을 때, 관주상아질은 관간상아질과 분명하게 구분되었으며 관주상아질을 구성하는

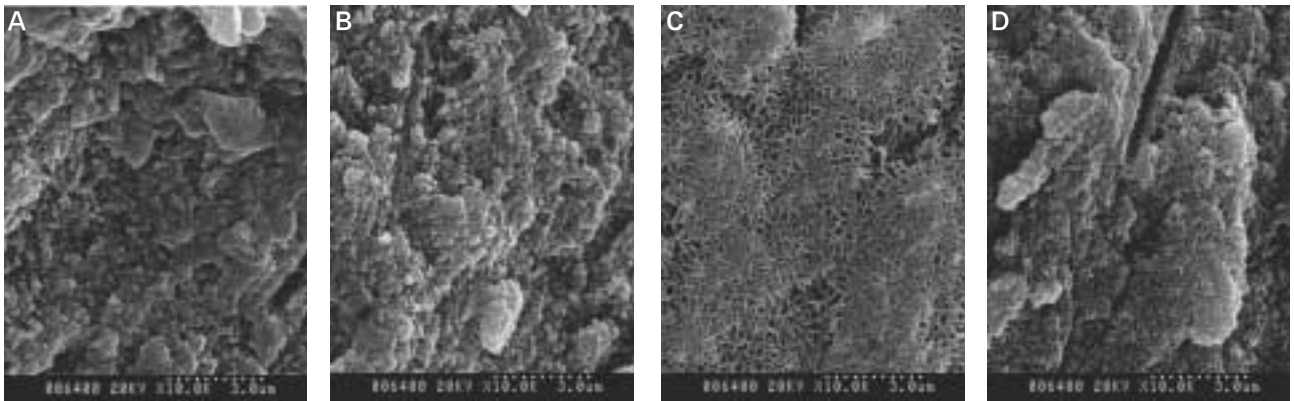


Figure 4. Representative scanning electron microscopic (SEM) images of 1 ppm specimen ($\times 10,000$).

(A- 10 μm , B-150 μm , C-200 μm , D-250 μm each from surface)

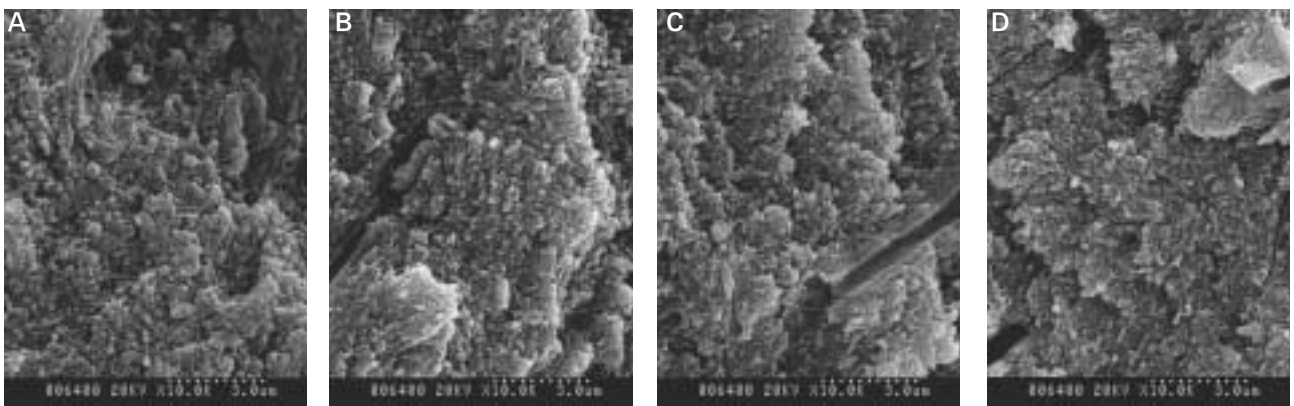


Figure 5. Representative SEM images of 2 ppm specimen ($\times 10,000$).

(A- 50 μm , B-150 μm , C- 200 μm , D-250 μm each from surface)

수산화인회석결정의 크기도 약 10-30 nm 정도로 정상상아질이나 탈회상아질에서 관찰되는 결정의 크기보다 크게 관찰되었다. 관간상아질에서 관찰되는 수산화인회석 결정의 크기는 정상상아질에서 많이 관찰되는 10-20 nm 정도의 결정보다 조금 큰 15-30 nm 정도이고 결정과 결정의 구분은 명확하지 않고 합쳐져 있는 듯한 양상으로 관찰되었다 (Figure 8-C).

병소본체 하부층에서는 상아세관, 관주상아질 및 관간상아질의 형태가 비교적 잘 유지되었다. 상아세관의 지름은 약 0.6-0.8 μm 정도였고 동일 부위의 정상상아질에서 보다는 넓어져 있었으나 탈회상아질보다는 축소되어 관찰되었다. 관주상아질은 정상상아질과 비교시 부분적인 상실이 관찰되었으나 탈회군과 비교시에는 상아세관 내로의 돌출이 보이고 그 폭도 증가되었다.

(3) 4ppm군

표면층에서는 상아세관이 잘 관찰되지 않고 빈 공간이 없는 수산화인회석 결정의 집합체로 관찰되었다. 이러한 표면층 사이로 결정들이 뭉쳐져서 원형 또는 타원형으로 관찰되

는 구조물이 흩어져 존재하였다. 이러한 구조물을 이루는 수산화인회석결정의 크기는 10-30 nm 정도로 정상상아질에서 관찰되는 결정의 크기보다 컸다. 100,000배 확대사진에서 수산화인회석 결정의 크기가 30-50 nm로 정상상아질에서 관찰되는 결정의 크기보다 컸으며 결정들은 서로 뭉쳐져서 파이버 형태를 이루고 있으며 결정 사이의 빈 공간은 거의 관찰되지 않았다 (Figure 6-A). 병소본체 상부층을 10,000배로 확대하여 관찰할 때 비교적 크기가 큰 (30 nm) 수산화인회석 결정이 많이 관찰되었다 (Figure 8-D). 관간상아질에서는 전자밀도가 1.2 ppm군과 비교시 높게 나타나지만 정상상아질에서 관찰되는 전자밀도 보다는 낮게 관찰되었다. 관간상아질의 수산화인회석 결정 크기도 정상상아질에서 보다는 크게 관찰되었다. 4 ppm군에서는 병소본체 상부와 하부의 관찰양상에 큰 차이가 없이 관찰되었다. 관간상아질의 전자밀도는 좀더 높아져 입자사이의 빈공간이 적게 관찰되었다 (Figure 6-C,D). fiber 형태로 길게 배열된 수산화인회석의 클러스터가 관찰되며 수산화인회석의 결정 크기는 정상상아질에서 보다 크게 관찰되었다 (Figure 9-D).

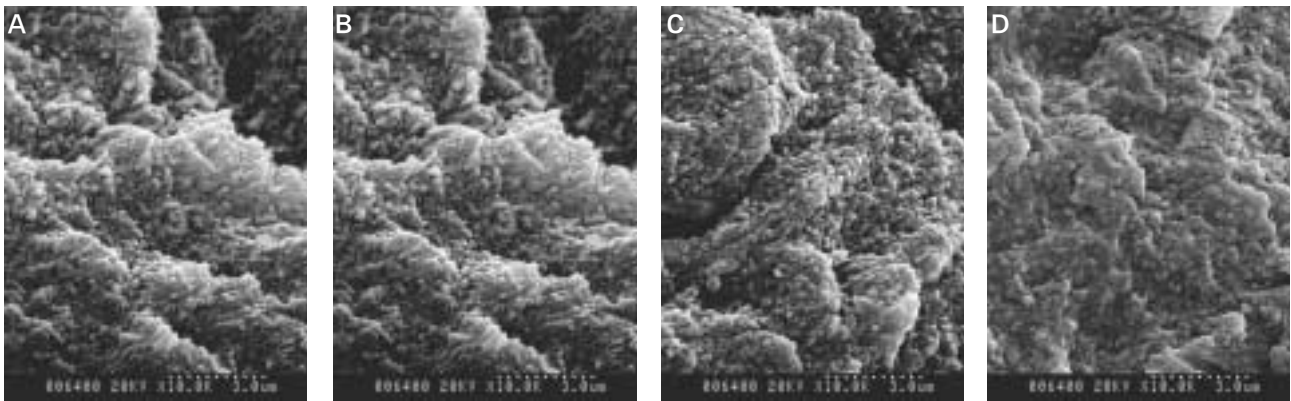


Figure 6. Representative SEM images of 4 ppm specimen ($\times 10,000$).

(A- 50 μm , B-150 μm , C- 200 μm , D-300 μm each from surface)

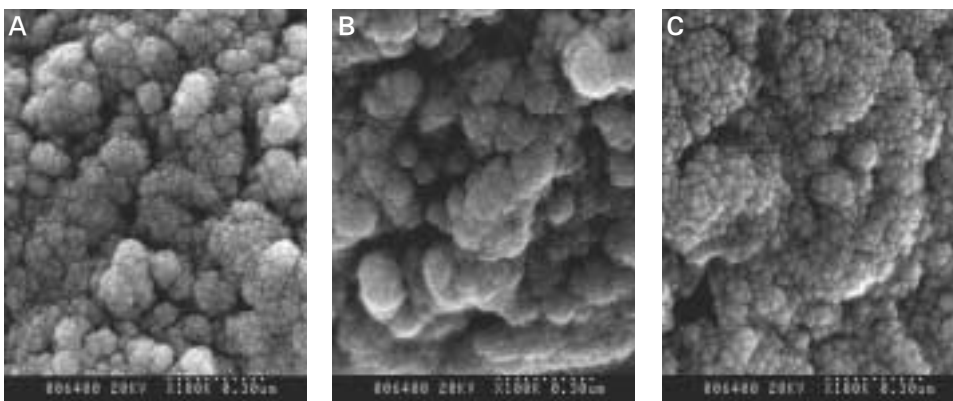


Figure 7. SEM images of superficial layer ($\times 100,000$).

(A- Normal dentine, B- Decalcified dentine, C- Dentine treated with 1 ppm re-mineralized solution for 7 days)

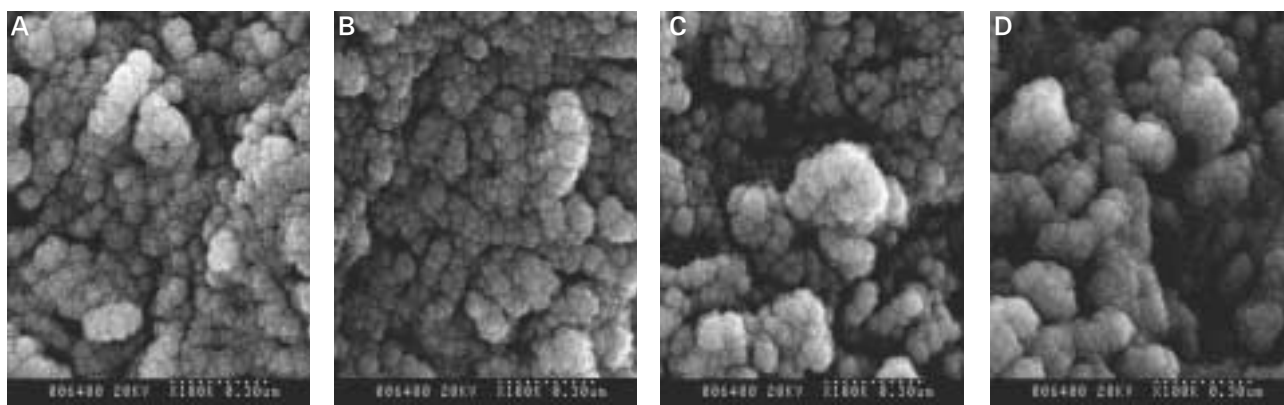


Figure 8. SEM images of upper part of lesion body ($\times 100,000$).

(A- Normal dentine, B,C and D - Dentine treated with 1,2 and 4 ppm re-mineralized solution each for 7 days)

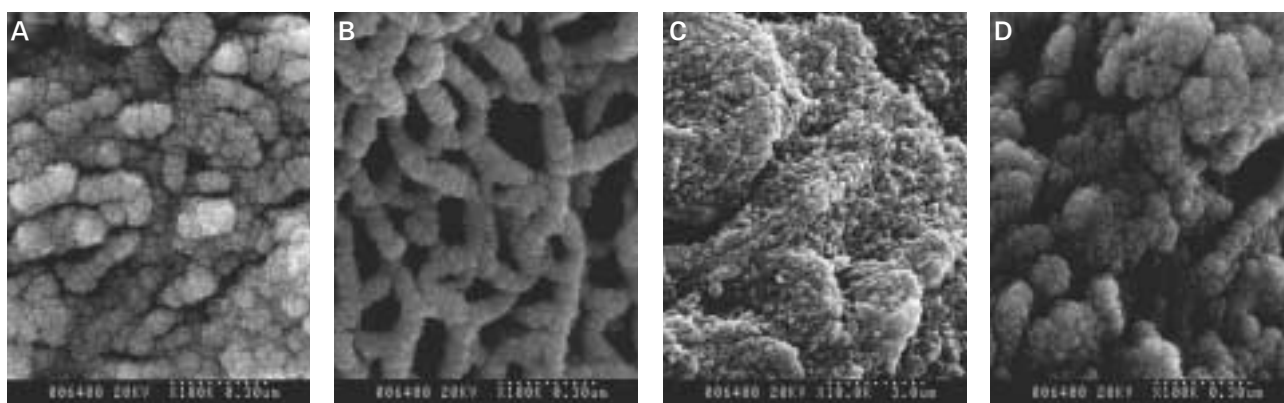


Figure 9. SEM images of lower part of lesion body ($\times 100,000$).

(A- Normal dentine, B,C and D - Dentine treated with 1,2 and 4 ppm re-mineralized solution each for 7 days)

IV. 고 찰

치아우식의 진행 및 재광화를 연구하는 방법은 크게 정량적 분석과 정성적 분석으로 구분할 수 있다. 정량적 분석을 시행하는 방법은 microradiography¹¹⁾, x-ray diffraction study¹²⁾, electron probe microanalysis¹¹⁾ 등이 있으며, 정성적 분석방법으로는 편광현미경관찰¹³⁾, 미세경도측정법¹⁴⁾, 전자현미경관찰¹⁵⁾ 등이 있다.

이번 실험에서는 우식형성 및 재광화과정 중에 나타나는 상아질의 변화를 정성적으로 분석하고자 하였다. 이를 위하여 우선 시편의 부위에 따른 무기질 분포양상을 편광현미경을 통하여 관찰 한 후 각각의 층을 주사전자현미경으로 관찰하여 수산화인회석 결정의 형태, 크기 및 배열양상의 변화를 추적 하였다.

불소의 항우식 작용기전에 대한 연구에서, 불소의 항우식 효과가 치질에 결합된 불소가 아니라 치아-치태 경계면에 존재하는 불소의 양에 의존한다는 의견이 강하게 제기되었다²⁾. 이러한 연구결과에 기초하여 많은 연구자들이 2 ppm

이하의 불소가 함유된 재광화 용액으로 실험을 실시하였는데, 한 등⁸⁾은 법랑질의 재광화 불소농도가 미치는 영향을 평가한 실험에서 1, 2, 4 ppm군 중 2 ppm군에서 심부까지 불소가 침착되어 재광화가 잘 일어남을 보고하였다. 본 실험에서는 법랑질에서 검증된 불소의 효과를 상아질에서도 관찰할 수 있는지를 확인하기 위하여 동일조건의 용액을 상아질에 적용하여 관찰하였다.

법랑질의 재광화에 관한 이전의 보고에서와 달리 상아질을 이용한 이번 실험에서는 4 ppm에서 가장 많은 재광화가 일어났다. 이는 법랑질에서 동일 완충액으로 처리했을 때, 표면층이 두껍게 형성되어 더 이상의 재광화가 억제된 것과 달리 상아질에서는 상아세관을 통한 용액의 이동이 심부까지 비교적 자유롭게 일어나는 것과 상아질과 법랑질의 산에 대한 용해도 차이에 의한 것 등 복합적인 원인에 의한 것으로 생각된다.

무기질의 손실에 의해 뚜렷한 음성 및 양성복굴절을 표현하는 법랑질과 달리 상아질의 경우 방향성을 갖는 콜라겐 파이버의 존재와 재광화 양상에서 나타나는 원형의 칼슘-포

스페이트 결정체 등의 영향으로 복굴절정도가 매우 복잡하게 표현되었다. 완전히 제거하려고 노력하였으나 제거되지 않고 남은 백악질의 경우 초기에는 음성복굴절이 유지되었으나 시간의 경과에 따라 이러한 음성복굴절이 소실됨이 관찰되었는데, 이러한 음성복굴절의 상실은 주사전자현미경으로 관찰했을 때, 표면층에서 관찰되는 크고 작은 원형의 칼슘-포스페이트 결정체의 침착에 의한 것으로 생각된다. 이러한 구형의 결정은 형태적 복굴절을 야기하여 뚜렷한 양성복굴절로 관찰되는데 세 군 모두 시간의 경과에 따라 이층이 일정 두께로 증가하며 양성복굴절의 정도가 뚜렷하게 증가함이 관찰되었다. 우식 본체의 경우에는 법랑질에서는 우식의 진행에 따라 양성복굴절이 음성복굴절로 변화되는데 상아질의 경우에는 우식의 진행에 따라 양성복굴절의 정도가 증가하였다. 이러한 우식의 진행은 불소의 농도가 각각 1, 2 ppm인 1, 2군에서는 과포화용액을 이용한 재광화 실험을 할 때에도 계속 진행됨이 관찰되어 편광현미경상에서 상아세관의 존재가 상실되고 양성복굴절정도가 증가되어 관찰되었는데 이러한 양성 복굴절의 증가는 우식의 진행을 의미한다. Vizioli¹⁶⁾는 정상상아질의 경우 상아세관과 평행인 intertubular zone의 강한 복굴절을 보이나 우식상아질에서는 이러한 복굴절이 음성에서 양성으로 바뀔을 보고하였다. 이러한 양성복굴절로 관찰되는 표면층과 우식 본체 사이에 음성복굴절 또는 등방성으로 관찰되는 층이 상아세관과 평행하게 또는 불규칙하게 관찰되는데 이러한 층은 주사전자현미경으로 관찰했을 때 상아세관의 형태가 구분되지 않고 무기질침착이 과도하게 일어난 재광화층으로 관찰된다. 이러한 밴드형태의 재광화층은 Dietz 등¹⁷⁾에 의해서도 보고되는데, 이들의 연구에 의하면, 이러한 밴드형태의 재광화층을 이용한 X-ray microanalysis로 측정한 칼슘량은 정상상아질의 약 99.6%로 측정되어 정상상아질과 큰 차이가 없음을 보고하였다.

우식 상아질에서 주사전자현미경으로 10,000배 확대하여 관찰했을 때, 무기질의 상실에도 불구하고 상아세관, 관주상아질, 관간상아질 등의 미세구조의 견고성은 비교적 유지되었다. 이러한 관찰은 Arends 등¹⁸⁾의 실험 결과와도 동일한 결과로 이들은 microradiograph와 주사전자현미경을 이용한 인체 내 실험에서 정상상아질의 50 vol%의 무기질 함량을 가진 경우에도 이러한 미세구조의 견고성이 유지된다고 보고하였다. 또한 탈회상아질의 파절면은 정상상아질에 비해 다공성의 구조로 관찰되었고 표면의 거친 결정체들이 관찰되지 않아 결이 부드럽게 관찰되었으며 군데군데 유기기질의 섬유가 노출되어 관찰되었다. 이러한 상아세관 내의 원섬유의 존재는 Takuma¹⁹⁾의 연구에서도 관찰되었다.

이번 실험에서는 우식 시편에서 미세구조의 견고성이 유지된 것과 달리 1 ppm의 불소가 포함된 재광화 용액으로 처리했을 때, 미세구조의 파괴가 병소 본체에서 관찰되었

다. 이러한 부위는 편광현미경으로 관찰했을 때, 양성복굴절 정도가 증가하고 상아세관과 평행하게 주행하는 음성복굴절이 사라진 부위로 병소본체의 심부였다. 이러한 파괴양상은 탈회와 재광화가 같이 일어나는 재광화 과정에서 용액 내의 불소, 칼슘, 포스페이트 등의 재광화에 필요한 구성요소가 표면층 및 병소본체의 상부의 재광화 과정으로 인하여 소진되어 재광화율보다 탈회율이 증가하기 때문으로 생각되며 이러한 요인을 줄이기 위해 상아질의 재광화에 있어서는 과포화 유산완충용액의 pH를 높여 실험을 해 보는 것도 필요하다고 생각된다.

주사전자현미경으로 100,000배 또는 200,000배로 관찰했을 때, 정상상아질과 탈회상아질의 수산화인회석결정의 크기가 관간상아질의 경우 10-15nm 정도인 것과 비교하여 재광화 상아질의 수산화인회석 결정은 그 크기가 1.5배에서 2배 까지 증가하였고, 결정의 형태도 정상상아질에서는 가로축과 세로축의 크기가 비슷한 원형 또는 오각형, 육각형의 결정형태가 관찰되는 것과 달리 약간 찌그러진 형태의 타원형과 비슷한 형태의 결정형태가 관찰되었고 스핀들 형태의 결정 모임의 길이도 짧아짐이 관찰되었다. 이러한 관찰은 LeGeros²⁰⁾의 저술과 동일한 결과이다.

표면층에서는 크기가 커진 원형의 비교적 균일한 수산화인회석 결정들이 서로 결합되지 않은 상태로 발견되었다. 이러한 층은 하방의 선상이나 그물상으로 관찰되는 부위와 달리 공간을 촘촘하게 덮고 있는데, 이러한 층은 Arends 등⁵⁾이 보고한 hyper-mineralization zone으로 생각되는데 이러한 층은 무기질함량이 정상상아질에서 보다 높게 관찰되었으며 편광현미경에서는 음성복굴절이 높게 관찰되어 투명하게 관찰되었다.

병소본체 상부층의 경우 정상상아질과 비교했을 때 큰 차이가 없었다. 자연적으로 형성된 치아 우식에서 관찰되는 상아세관의 폐쇄성 변화²⁴⁾도 일부에서 관찰되지만 비교적 상아세관의 형태가 견고하게 유지되어 관찰되었으며 표면에 granular surface texture를 가지는 것도 관찰되었다. 이러한 원형의 표면특징이 이 층을 편광현미경 관찰했을 때 음성복굴절이 증가하여 투명층으로 관찰되게 하는 것으로 생각되며 이러한 관찰은 Takuma가 법랑질에서 관찰한 양상과 유사하다¹⁹⁾. 그러나, 100,000배로 확대하여 관찰한 수산화인회석 결정의 크기는 상아세관 내 관주상아질이나 관간상아질에서 정상상아질이나 탈회상아질에 비해 크게 관찰되었는데, 이러한 관찰은 LeGeros²⁵⁾가 주장한 (F,OH)-apatite 결정의 형성과 연관이 있을 것으로 생각된다. 또한, 세균 모두에서 불화칼슘으로 생각되는 원형의 구조물이 관찰되었다. LeGeros²⁵⁾는 포스페이트이온이 없는 상태에서의 순수한 불화칼슘은 각형이지만 포스페이트이온이 존재 시에는 이러한 형태가 구형으로 변형됨을 보고하였다. 이번 실험에서 표면층의 수 많은 구형의 결정구조가 관

찰되었는데, 이것이 불화칼슘으로 생각되나 이러한 사실의 정확한 확인을 위하여는 X-ray diffraction pattern의 확인이 필수적이다.

마지막으로 우식병소본체 하부에서는 병소내의 무기질이 많이 소실된 형태로 관찰되었다. 특히 1 ppm의 불소를 포함한 재광화 용액으로 처리했을 때, 가장 뚜렷하게 관찰되어 그물망 형태의 기질원섬유를 둘러싼 수산화인회석 결정만이 남아있는 형태로 관찰되었다. 그러나, 전체 무기질량의 감소에도 불구하고 수산화인회석의 크기는 오히려 증가되어 관찰되었다. 이러한 양상은 구강 내에서의 상아질 우식의 진행양상을 관찰할 때도 일어나는 데 자연우식에서는 우식 진행 시에 그물망 형태의 유기기질 주위의 수산화인회석과 함께 세균의 침투가 관찰되는데, 이 때 관찰되는 수산화인회석의 크기는 정상 상아질에 비해 작아짐을 보고하였다. 1 ppm군에서 수산화인회석 결정의 배열상태 관찰에서 상아질 우식의 재광화 과정을 유추해 볼 수 있었다. 우식이 진행되어 유기기질 주변의 수산화인회석 결정체만 남아있는 상태에서 불소와 함께 높은 농도의 칼슘과 포스페이트를 공급하면 기질원섬유 주변의 수산화인회석이 연장되어 스펀들 형태의 결정체를 형성하고 이러한 결정체가 섬유간구역(interfibrillar region)을 채우는 양상으로 관찰되었다. 이러한 관찰은 Watson과 Avery²⁶⁾가 햄스터의 치아 발생과정에서 상아질의 무기질 침착을 관찰했을 때의 양상과 비슷하였다.

많은 연구가들이 재광화의 가설에 대하여 언급하였다. Levine²⁷⁾은 재광화가 우식에 의해 탈회된 콜라겐섬유에 과포화된 용액으로부터 형성된 새로운 인회석결정의 침착이나 또는 기존에 존재하는 결정의 성장으로 추론하였으며, 그 다음해 계속된 실험¹⁰⁾을 통하여 결정성장에 의한 재광화라는 가설을 주장하였다. 이러한 가설은 Klont와 ten Cate²⁸⁾의 칼슘과 포스페이트를 포함한 완충용액을 이용한 재광화 실험을 통하여도 검증되었는데, 이들은 재광화가 유기기질에서 무기질의 새로운 핵화 (nucleation)에 의해 일어나는 것이 아니고 부분적으로 탈회된 치근조직에 남아있는 결정의 성장에 의한다고 보고하였다. 이러한 결정성장 이론은, 불소가 존재할 때, 불소이온이 수산화인회석 같은 무기질의 crystalline대로 결합하고 이러한 결합이 수산화인회석 결정의 화학적, 물리적특성을 변화시킨다고 하였으며, 불소농도의 증가와 함께, 결정크기가 증가됨이 보고되었다. 본 실험에서도 1 ppm군에서의 병소본체 하부의 주사현미경 관찰에서 결정의 재광화 양상이 뚜렷하게 관찰되었다.

이번 실험에서는 편광현미경과 주사전자현미경을 이용한 정성적 관찰을 시행하였다. 그러나, 편광현미경에서 관찰된 복굴절정도를 해석해서 그 부위의 정확한 탈회 및 재광화량을 정량화 하는 것이 불가능하였고 주사전자현미경도 수산

화인회석결정 크기 등의 정성적 관찰만 가능하였다. 향후 실험에서는 정성적 분석 뿐 아니라 X-ray microanalysis¹⁷⁾ 등을 이용하여 부위에 따른 칼슘 및 불소 등의 정량적 분석도 같이 시행하면 우식 및 재광화 과정의 진행양상 해석에 도움이 될 것으로 생각된다. 또한 수산화인회석 결정의 3차원적인 형태 변화의 관찰을 위하여서는 투과전자현미경을 이용한 연구가 필요하다고 생각된다. 이번 실험에서 가장 고농도인 4 ppm에서 가장 많은 재광화가 관찰되었으므로 더 높은 농도의 불소가 존재할 때의 재광화에 대한 연구와 pH가 좀 더 중성일 때의 재광화에 대한 연구도 필요하다고 생각된다.

V. 결 론

본 실험의 결과에 의하면, 상아질의 우식과 재광화 과정이 단순히 탈회 또는 재광화만이 독립적으로 일어나는 과정이 아니고 이 두 과정이 동시에 일어나는 동력학적인 과정이다. 또한 불소농도의 증가와 함께 재광화 양상도 증가하였고, 이러한 재광화는 유기기질망 주위의 수산화인회석결정을 중심으로 진행되었다.

참고문헌

1. 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 24:101-112,1979.
2. Margolis HC, Moreno EC. Physicochemical perspectives on the cariostatic mechanisms of systemic and topical fluorides. J Dent Res 69 Spec No: 606-613: discussion 34-36,1990.
3. Dean HT, Arnold FA, Elvove E. Domestic water and dental caries. V. Additional studies of the relation of fluoride in domestic waters to dental caries experience in 4,425 white children aged 12 to 14 years, of 13 cities in 4 states. Publ.Hlth.Rep 57:1155-1179,1942.
4. ten Cate JM, Rempt HE. Comparison of the in vivo effect of a 0 and 1,500 ppmF MFP toothpaste on fluoride uptake, acid resistance and lesion remineralization. Caries Res 20:193-201,1986.
5. Arends J, Christoffersen J, Ruben J, Jongebloed WL. Remineralization of bovine dentine in vitro. The influence of the F content in solution on mineral distribution. Caries Res 23:309-314,1989.
6. Silverstone LM, Poole DF. The effect of saliva and calcifying solutions upon the histological appearance of enamel caries. Caries Res 2:87-93,1968.
7. Varughese K, Moreno EC. Crystal growth of calcium apatites in dilute solutions containing fluoride. Calcif Tissue Int 33:431-439,1981.
8. 한원섭, 이찬영. 인공치아우식의 재광화에 미치는 불소의 영향. 대한치과보존학회지 21:161-173,1996.
9. Kawasaki K, Ruben J, Tsuda H, Huysmans MC.

- Takagi O. Relationship between mineral distributions in dentine lesions and subsequent remineralization in vitro. *Caries Res* 34:395-403,2000.
10. Levine RS, Rowles SL. Further studies on the remineralization of human carious dentine in vitro. *Arch Oral Biol* 18:1351-1356,1973.
11. Groeneveld A, Jongebloed W, Arends J. The mineral content of decalcified surface enamel. A combined microprobe- quantitative microradiography study. *Caries Res* 8:267-274,1974.
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. Darling AI. Some observations on amelogenesis imperfecta and calcification of the dental enamel. *Proc R Soc Med* 49:759-765,1956.
14. Featherstone JD, ten Cate JM, Shariati M, Arends J. Comparison of artificial caries-like lesions by quantitative microradiography and microhardness profiles. *Caries Res* 17:385-391,1983.
15. Haikel Y, Frank RM, Voegel JC. Scanning electron microscopy of the human enamel surface layer of incipient carious lesions. *Caries Res* 17:1-13,1983.
16. Vizioli MR. Dichroism and birefringence in human carious dentine. *Ann Histochim* 15:131-140,1970.
17. 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.
18. Arends J, Ruben J, Jongebloed WL. Dentine caries in vivo. Combined scanning electron microscopic and microradiographic investigation. *Caries Res* 23:36-41,1989.
19. Takuma S. Demineralization and Remineralization of tooth substance- an ultrastructural basis for caries prevention. *J Dent Res* :2146-2156,1980.
20. LeGeros RZ. Formation and Stability of Synthetic Apatites. *Calcium Phosphates in Oral Biology and Medicine*: Karger, p 82-107,1991.
21. Holmen L, Thylstrup A, Featherstone JD, Fredebo L, Shariati M. A scanning electron microscopic study of surface changes during development of artificial caries. *Caries Res* 19:11-21,1985.
22. Hayashi Y. High resolution electron microscopy of the interface between dental calculus and denture resin. *Scanning Microsc* 9:419-425; discussion 25-27,1995.
23. 박정원, 이찬영. 유기산 완충용액의 포화도가 법랑질 및 상아질의 재광화에 미치는 영향과 수산화인회석의 AFM 관찰. *대한치과보존학회지*. 25:459-473,2000.
24. Takuma S, Sunohara H, Watanabe H, Yama K. Some structural aspects of carious lesions in human dentine. *Bull. Tokyo dent. Coll.* 10:173-181,1969.
25. LeGeros RZ. Chemical and crystallographic events in the caries process. *J Dent Res* 69 Spec No:567-574; discussion 634-636, 1990.
26. Watson ML, Avery JK. The development of the hamster lower incisor as observed by electron microscopy. *Am J Anat* 95:109-,1954.
27. Levine RS. Remineralization of human carious dentine in vitro. *Arch Oral Biol* 17:1005-1008,1972.
28. Klont B, ten Cate JM. Remineralization of bovine incisor root lesions in vitro: the role of the collagenous matrix. *Caries Res* 25:39-45,1991.
29. Scott DB, Simmelink JW, Nygaard V. Structural aspects of dental caries. *J Dent Res* 53:165-178,1974.

국문초록

유기산 완충용액의 불소농도가 상아질의 재광화에 미치는 영향

한원섭 · 이찬영*

연세대학교 치과대학 치과보존학교실

상아질의 재광화에 적당한 불소농도에 대하여는 서로 다른 주장이 존재하므로 불소가 병소 내 무기질의 분포와 수산화인회석 결정성장에 미치는 영향을 분석하기 위하여 이 연구를 시행하였다. 치아절편을 유산완충 탈회용액에 넣어 인공 치아우식을 형성한 후, 재광화 효과를 관찰하기 위해 불소농도가 각각 1, 2, 4 ppm인 유산완충 재광화용액에서 7일간 유지시켰다. 우식 진행과 재광화 양상을 관찰하기 위하여 탈회 2일, 재광화 7일 등 총 9일간 편광현미경으로 관찰하였으며 수산화인회석결정의 변화를 관찰하기 위하여서는 정상상아질, 탈회 2일군, 재광화 7일군의 파절시편을 주사전자현미경으로 관찰하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 모든 군에서 병소상부의 무기질침착과 병소하부의 무기질소실이 동시에 일어났다.
2. 불소농도가 증가하면 우식 병소의 무기질침착이 증가하였다.
3. 수산화인회석결정이 커졌다.

본 실험의 결과에 의하면, 상아질의 우식과 재광화 과정이 단순히 탈회 또는 재광화만이 독립적으로 일어나는 과정이 아니고 이 두 과정이 동시에 일어나는 동력학적인 과정이다. 또한 불소농도의 증가와 함께 재광화 양상도 증가하였고, 이러한 재광화는 유기기질망 주위의 수산화인회석결정을 중심으로 진행되었다.

주요단어: 재광화, 상아질, 불소, 유산완충용액, 편광현미경, 주사전자현미경