

pH 5.5에서 재광화 용액의 포화도 변화가 인공 탈회된 법랑질의 재광화에 미치는 영향

곽영준 · 김의성 · 박성호 · 공형규 · 이 윤 · 이찬영*
연세대학교 치과대학 치과보존학교실

ABSTRACT

THE REMINERALIZING FEATURES OF PH 5.5 SOLUTIONS OF DIFFERENT DEGREE OF SATURATIONS ON ARTIFICIALLY DEMINERALIZED ENAMEL

Young-Jun Kwak, Eui-seoug Kim, Sung-Ho Park, Hyung Kyu Gong, Yoon Lee, Chan-Young Lee*
Department of Conservative Dentistry, Yonsei University, Seoul, Korea

The purpose of this study is to observe and compare the remineralization tendencies of artificially demineralized enamel by remineralization solutions of different degree of saturations at pH 5.5, using a polarizing microscope and computer programs (Photoshop, Image pro plus, Scion Image, Excel).

For this study, 36 sound permanent teeth with no signs of demineralization, cracks, or dental restorations were used. The specimens were immersed in lactic acid demineralization solution for 3 days in order to produce dental caries artificially that consist of surface and subsurface lesions. Each of 9 or 10 specimens was immersed in pH 5.5 lactic acid buffered remineralization solution of three different degrees of saturation (0.25, 0.30, 0.35) for 12 days. After the demineralization and remineralization, images were taken by a polarizing microscope ($\times 100$). The results were obtained by observing images of the specimens, and using computer programs, the density of caries lesions were determined.

In conclusion, in the group with the lowest degree of saturation, remineralization occurred thoroughly from the surface to the subsurface lesion, whereas in the groups with greater degree of saturation showed no significant change in the subsurface lesion, although there was corresponding increase in the remineralization width on the surface zones. [J Kor Acad Cons Dent 33(5):481-492, 2008]

Key words : Demineralization, Remineralization, pH, Degree of saturation

- Received 2008.8.12., revised 2008.8.22., accepted 2008.9.2-

I. 서 론

* Corresponding Author: Chan-Young Lee

Department of Conservative Dentistry,
College of Dentistry Yonsei University
134, Shinchon-dong, Seodaemun-gu, Seoul, 120-752, Korea
Tel: 82-2-2228-8700
E-mail: chanyoungl@yuhs.ac

치아 우식은 섭취한 음식물이 구강 내의 세균들에 의해 분해되고 이때 생성된 유기산에 의해 치아의 경조직이 용해되는 현상으로, 초기에는 유기산이 법랑질의 interprismatic space로 침투하게 되고 점차적으로 intercrystallite pathway를 거쳐 hydroxyapatite를 녹이게 되며, 칼슘과 인 이온을 유리시켜 밖으로 내보내면서 시작된다. 초기 법랑질

우식 병소는 임상적으로 백반상, 혹은 갈색을 띠고, 표층은 비교적 건전하나 하부의 병소 본체에서 탈회와 재광화가 진행되는 특징적인 소견을 보이며 탈회와 재광화가 역동적으로 일어나는 과정이다¹⁻³⁾.

편광 현미경으로 관찰 시, 음성 복굴절을 보이는 건전 표층의 기전에 대해서는 각기 다른 해석이 존재하는데, Brudevold 등⁴⁾은 표층 법랑질 자체의 화학적 특성 때문에 우식에 저항성을 가진다고 하였다. 즉, 법랑질의 표면은 내부 법랑질에 비해 불소의 농도, 광물과 아연의 함량이 높고 탄소가 적어서 표면층이 보다 더 우식 저항성을 보인다는 것이다. 이에 대해 Brown 등⁵⁾은 법랑질 자체의 화학적 특성으로, Christoffersen 등⁶⁾은 억제 인자로, Featherstone 등⁷⁾은 pellicle의 존재로, Moreno 등⁸⁾은 탈회와 재광화 사이에서 발생하는 동역학적인 기전으로 설명하였다. 이러한 이론들에 기초하여 초기 인공 우식 형성에 영향을 미치는 인자들에 관하여 Englander 등⁹⁾은 lactic acid가 치아 우식을 유발하는 치태의 주요 대사산물이므로 치태의 우식원성을 측정하는 기준으로 pH를 사용하였고, Margolis 등^{10,11)}은 동역학적인 기전에 입각한 인공 우식 실험에서 법랑질 탈회율을 pH만으로 평가하는 것은 적절하지 못하며 법랑질 무기물에 대한 탈회용액의 포화도로 가장 잘 나타낼 수 있다고 하였다. Margolis 등¹²⁾은 완충용액의 법랑질에 대한 칼슘, 인 등의 포화도에 의해서 우식 표면하층의 생성 여부가 결정되며 탈회시간이 길수록 병소 깊이가 증가한다고 보고하였고, Gray¹³⁾는 광물질 소실이 유기산의 비이온화된 형태의 농도 및 pH, 산해리 상수와 상관성이 있음을 보고하였다. 한편, Theuns 등¹⁴⁾은 법랑질 탈회율이 pH뿐 아니라 유기산의 비이온화된 형태의 농도에도 의존하며, 치태액의 구성 성분을 규명하면 치태의 우식원성을 평가하는데 효과적이라고 하였다. Kapur 등¹⁵⁾은 법랑질 탈회와 산의 종류, pH, 농도, 포화도 등의 변수와의 상관성을 조사한 연구에서 탈회된 병소 깊이가 산의 농도에 비례하여 증가되었으나, 포화도는 큰 영향이 없었으며 유기산의 비이온화된 형태의 농도가 탈회에 관여한다고 보고하였다.

인공 탈회 및 재광화를 형성하는 방법으로는 Moreno 등⁸⁾이 제안한 acid buffer system과 Silverstone³⁾이 제안한 acid gel system 등이 있다. Acid gel system은 실제 자연 치아의 초기 우식과 유사한 형태로 병소가 재현되는 장점이 있으나 시간이 너무 오래 걸리며 실험결과에 영향을 주는 화학적 제제가 포함되어 있다는 단점이 있다. Moreno 등⁸⁾, 이¹⁶⁾가 사용한 acid buffer system으로 형성된 인공 탈회는 수 일내에 병소를 진행시킬 수 있고 병소 형태에 관여하는 여러 가지 인자를 분리해서 정확히 관찰할 수 있으며, 포화도를 변화시켜 탈회 진행을 느리게 하여 자연 치아 우식 병소와 유사한 병소를 형성할 수 있다는 장점이 있다.

일반적으로 재광화의 진행 양상은 우식 병소 전체 깊이가

감소하는 소견과 우식 표면층의 지속적인 증가 형태로 관찰되는데, 우식 병소 전체에 무기질이 침착하여 탈회가 적게 일어났던 병소의 가장자리부터 재광화 되는 양상을 보인다. 이런 재광화는 용액 상태의 유리된 칼슘, 인, 불소 이온이 법랑질 내부로 침투하여 법랑질의 탈회를 억제하고 무기질의 침착을 유도하기 때문이라고 알려져 있다^{17,18)}.

초기 우식 병소가 재광화될 수 있다는 임상적인 증거로 다수의 재광화 실험이 행해졌다. ten Cate 등¹⁹⁾은 우식 병소의 재광화 기전을 수산화 인회석의 침착으로 설명하였고, 이는 표층근처에서 시작되어 점차 안쪽으로 진행되고 결국 암층까지 침전된다고 하였다. Margolis 등¹⁰⁾은 solubility diagram을 통하여 법랑질과 DCPD (dicalcium phosphate dehydrate)의 용해를 나타내고 이들이 만나는 점을 singular point라고 하였으며 이 상부에서 법랑질이 DCPD로 바뀌면서 법랑질 표면에서 침착한다고 하였다.

재광화 용액에 첨가되는 불소나 칼슘이온에 대하여 여러 이견이 존재하는데, ten Cate 등²⁰⁾은 1 ppm의 불소를 사용할 경우 fluoroapatite 침착에 의해 불소가 없는 경우보다 2 배 이상의 재광화가 일어났다고 하였다. Silverstone 등¹⁷⁾은 재광화 용액의 칼슘 농도는 1 ~ 2 mM이 적당하고 재광화시킨 후 quinoline에 48시간 침적시켜 관찰한 결과 새로운 암층의 형성을 보였다고 하였으며 불소가 존재한 경우 재광화를 가속시킨다고 보고하였다. 한 등²¹⁾은 불소 농도를 달리한 재광화 실험에서 1 ppm 이나 4 ppm인 경우보다 2 ppm 일 때 뚜렷한 재광화 양상을 보였다고 보고하였다.

재광화에 대한 pH의 영향에 대해서는 많은 연구가 있었으나 아직도 많은 이견이 있다. Feagin 등²²⁾은 재광화와 완충용액의 pH 증가 사이에는 비례적 상관관계가 존재한다고 하였고, Featherstone 등²³⁾은 재광화에 있어 최적의 pH는 무기질의 침착이 가능하면서 법랑질의 용해가 일어나지 않는 6 ~ 8 정도라고 하였다. Nikiforuk²⁴⁾은 칼슘과 인이 포화된 ion activity product 가 pH에 따라 달라지게 되고, 칼슘 농도나 불소 이온과도 상호 연관성을 가진다고 보고하였다. Margolis 등²⁵⁾은 재광화에 있어 1 ppm의 불소 첨가 시 산성 용액이 중성 용액보다 효과가 있다고 하였고, Lammers 등²⁶⁾은 pH는 낮은 불소 이온 농도에서만 재광화 효과가 크며 높은 농도의 불소 이온에서 완충용액의 pH 효과는 차이가 없다고 하였다. 박 등²⁷⁾은 pH 를 4.3으로 정하고 시행한 실험에서 재광화시 중성에 가까운 pH 에서 무기질의 침착이 표층부위에 국한되어 일어났기 때문에 pH를 낮추었다고 하였고 이처럼 pH를 낮추어서 재광화를 진행할 경우 탈회의 과정과 동시에 탈회된 병소의 심층부에서 무기질이 침착되는 효과를 보기 위함이라고 하였다. 그러나 김 등²⁸⁾의 연구에 의하면 pH가 5.5 에서 다른 pH 보다 더 나은 재광화 양상을 나타내었다고 하였고, 김 등²⁹⁾의 연구에서

도 pH 4.3 과 pH 5.0 에서는 재광화 후에 재탈회가 일어난 반면, pH 5.5 인 경우 재광화시 추가적인 탈회부위 없이 재광화가 일어났다고 보고하였다.

이에 이전의 인공 탈회된 법랑질에 대해 여러 가지 조건을 변화시켜 병소 전체에 재광화를 일어나게 하려고 실행했던 실험의 일환으로, 본 연구의 목적은 pH 5.5 에서 탈회된 법랑질에 재광화 완충용액을 이용하여 재광화 용액의 포화도 변화에 따른 법랑질의 재광화 양상을 관찰하고 그 정도를 정량적으로 평가하는 것이다.

II. 실험재료 및 방법

1. 시편 제작

우식과 수복물이 없고 탈회되지 않은 발거한 지 1달 이내의 소구치를 선택하여 치면에 부착된 연조직과 치석을 치주 큐렛으로 제거하고 불소가 포함되지 않은 연마제로 치면을 연마한 다음 초음파 세척기로 10분간 세정하고 증류수로 세척, 건조하였다. 10 ml 시린지를 이용하여 만든 높이 1 cm, 직경 1 cm의 tube에 치과용 아크릴 레진을 이용하여 치관 부위는 노출시키고 치근 부위만 매몰하였다. 아크릴 레진이 경화된 후 Minitom (Struers, Denmark)을 이용하여 치아 장축에 평행하게 근원심축으로 0.2 ~ 0.3 mm의 절편을 만든 다음 #800 사포를 이용하여 0.15 mm 두께로 연마하였다. 치아시편을 연마한 후 초음파 세척기로 10분간 세정한 뒤 윗면과 아랫면을 Scotchbond Multi-Purpose (3M, U.S)로 질소가스 하에 광중합하고, 근원심면 쪽의 손상이나 균열이 없는 부위 중 약 1 mm ~ 2 mm 정도의 window를 제외하고 시편의 옆면에 nail varnish를 도포하였다 (Figure 1).

2. 실험 용액의 제조

2.1 Stock 용액의 제조

30% 유산용액 (Sigma Co., St. Louis., U.S.)을 이용하

여 1.017 M lactic acid, 염화칼슘분말 (Sigma Co., St. Louis., U.S.)을 이용하여 0.321 M 의 Calcium, 그리고 인산칼륨분말 (Sigma Co., St. Louis., U.S.)을 이용하여 0.976 M 의 Phosphate 을 만들어 이를 stock 용액으로 사용하였다.

2.2 탈회 완충 용액의 제조

Stock 용액에서 계산된 양을 취하여 Table 1에 제시된 Lactic acid, Calcium, Phosphate의 농도를 만들고, 3.08 mM NaN₃를 첨가한 다음 8 N 수산화칼륨 표준 용액으로 pH meter (Orion Research Inc., U.S.) 측정 하에 pH 4.3이 되도록 조절하였다. 위의 용액을 790 Personal Ion Chromatography (Metrohm, Switzerland)로 각 이온의 농도를 다시 정량 분석하여 이를 시편의 탈회 용액으로 사용하였다.

2.3 재광화 완충 용액의 제조

Stock 용액을 이용하여 불소가 2 ppm 포함되게 하고, 다른 3개의 재광화 용액에 3.08 mM NaN₃를 첨가하고, 8 N 수산화칼륨 표준용액으로 pH 5.5가 되도록 하였다. 위 용액을 ion chromatography로 정량 분석한 다음 재광화 용액으로 이용하였다 (Table 2).

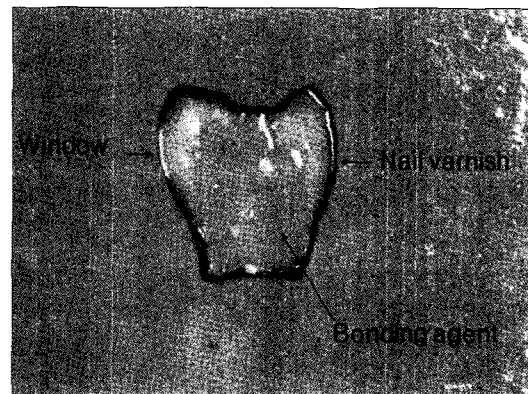


Figure 1. Specimen used in the experiment.

Table 1. Initial composition of demineralization solution

Composition	Concentration
Lactic acid (mM)	100
Calcium (mM)	15.63
Phosphate (mM)	8.30
Sodium azide (mM)	3.08
pH	4.30

Table 2. Initial composition of remineralization solution

composition	Concentration		
	Group 1	Group 2	Group 3
Lactic acid (mM)	10	10	10
Calcium (mM)	1.59	1.71	2.05
Phosphate (mM)	0.72	0.85	0.94
Sodium azide (mM)	3.08	3.08	3.08
pH	5.5	5.5	5.5
Fluoride (ppm)	2	2	2
Degree of Saturation	0.25	0.30	0.35

3. 법랑질 인공 우식의 형성 및 관찰

50 ml 플라스틱 통에 탈회 완충 용액 30 ml을 채우고 시편이 잠기도록 설치한 후 섭씨 25도 항온조에 3일간 반응시켰다. 일부 시편을 편광 현미경 I221 (동원정밀, 한국)하에서 증류수에 침윤시켜 배율 100배인 상태에서 Coolpix 950 (Nikon corporation, Japan)으로 0, 1, 2, 3 일째 사진 촬영하였다.

4. 법랑질 인공 우식의 재광화 및 관찰

30 ml 플라스틱 통에 재광화 완충용액 30 ml을 채우고 시편이 잠기도록 설치한 후 섭씨 25도 항온조에 12일간 반응시키고, 이 때 용액은 2일 간격으로 교체하였다. 0.15 mm 시편을 매일 편광 현미경 하에서 증류수에 침윤시켜 배율 100 배인 상태에서 관찰 및 촬영하였다.

5. 실험 자료의 분석 및 통계

편광 현미경을 이용하여 시편을 100 배로 관찰하고 현미경에 연결된 디지털 카메라로 촬영하였다 그 후, 전체 탈회 깊이의 변화를 평가하기 위해 재광화 전후 임의의 각기 다른 지점에서 다섯 부위를 선택하여 표면층에서 양성 복굴절 끝까지 수직 길이를 측정하였고 0.01 mm 표시된 슬라이드로 촬영한 상과 그 길이를 환산하여 각 구간 평균값을 계산하였다. 또한 우식 표면층 폭은 표면에서 우식 표면층의 음성 복굴절 끝까지의 수직 길이를 위와 같은 방법으로 산출하였다. 이를 위해 Photoshop program (Adobe, U.S.)을 이용하여 탈회와 재광화 후의 동일 slice를 중첩시켰고 Image pro plus (Media-cybernetics, U.S.)를 이용하여 그 양의 차이를 비교하였다. 또한 Scion Image program (Scion Corporation, Maryland, U.S.)으로 density를 측정하고 Spread sheet program인 Excel (Microsoft, U.S.)로

graph로 처리한 뒤 graph의 면적을 계산하여 재광화 층의 넓이를 탈회 층에 대한 백분율로 표시하였다.

위의 결과를 SPSS 12.0로 재광화 군간의 차이를 살펴보기 위해 일원변량분석 (One-way ANOVA)을 실시하였고, 유의미한 변인에 대해서는 LSD 사후 검증하였다.

III. 결 과

1. 편광 현미경 관찰 소견

인공적으로 탈회 후 재광화시킨 시편을 편광 현미경 하에서 물에 침윤하여 100 배로 관찰한 결과, 재광화 후 대부분의 시편에서 우식 표면층이 관찰되었다. 또한, 법랑질 초기 우식 병소의 특징적인 건전 표층과 표층하 탈회부를 관찰할 수 있었는데, 건전 표층은 정상 법랑질과 같은 음성 복굴절을 보였고, 병소 본체는 짙은 황갈색으로 관찰되었으며 양성 복굴절 양상을 보였다.

1.1 1 군의 재광화 소견

탈회 후 건전 표층은 불연속적인 모습이었으나 재광화가 진행됨에 따라 음성 복굴절 양상이 증가하였다(Figure 1, 2). 시간이 지남에 따라 건전 표층의 연속성이 증가하거나 더 뚜렷해짐을 보였고, 건전 표층의 폭도 증가함을 보였다. Figure 2의 심부를 보면 건전 표층만 뚜렷해진 것이 아니고 심부에서도 재광화의 양상이 관찰됨을 알 수 있었다.

1.2 2 군의 재광화 소견

비교적 연속적으로 형성된 건전 표층을 관찰할 수 있고 우식 표면층에 주로 재광화가 일어났으며 심부에도 약간의 재광화가 일어난 소견을 보이고 있다 (Figure 3, 4). 그러나 1 군에서와 같이 심부에서 두드러진 재광화 양상은 나타나지 않았다.

Table 3. One-way ANOVA on the remineralizing features of pH 5.5 solutions of different degree of saturations on artificially demineralized enamel

Variable	SS	df	MS	F
Demineralized depth	13.63	2	6.81	0.80
Surface lesion width	13145.10	2	6572.55	8.12 *
Mineral density	19.90	2	9.95	0.37

* $p < .05$

Table 4. Quantitative value change (%) and the post-hoc result of enamel during de- and remineralization

Variable	Group 1	Group 2	Group 3	F	LSD
Demineralized depth (%)	98.42 (2.42)	100.18 (3.83)	100.04 (14.94)	0.80	
Surface lesion width (%)	126.37 (11.79)	160.98 (34.20)	237.66 (27.55)	8.12 *	1.2 < 3
Mineral density (%)	137.20 (6.09)	128.38 (22.61)	125.17 (18.14)	0.37	

Standard Deviation (SD) is in the parentheses.

* $p < .05$

1.3 3 군의 재광화 소견

연속적으로 형성된 건전 표층을 확인할 수 있고, 그 폭도 1 군과 2 군에 비해 증가된 양상을 볼 수 있다 (Figure 5, 6). 즉, 우식 표면층에 많은 재광화가 일어났고 심부인 병소 본체는 대부분 여전히 탈회된 상태로 남아있음을 알 수 있다.

2. 컴퓨터 프로그램을 이용한 재광화의 정량적 평가

2.1 각 군간 재광화 후의 재탈회 양에 대한 정량적 평가

재광화 후 시편의 탈회된 법랑질 깊이의 변화는 뚜렷이 관찰되지 않았다 (Figure 7, Table 3). 1 군은 98.42 ± 2.42 (%), 2 군은 100.18 ± 3.83 (%), 3 군은 100.04 ± 14.94 (%) 의 비율로 재광화 후 탈회의 진행 양상을 보였다. 각 군별 통계적 유의차는 없었고 ($p = 0.923$) 1 군에서는 미약하지만 오히려 탈회의 양이 줄어드는 양상을 보였다.

2.2 각 군간 건전 표층의 폭에 대한 정량적 평가

모든 군에서 우식 표면층의 폭은 더욱 증가된 것을 확인할 수 있었다 (Figure 8, Table 3). 1 군은 126.37 ± 11.79 (%), 2 군은 160.98 ± 34.20 (%), 3 군은 237.66 ± 27.55 (%) 의 비율로 우식 표면층의 폭이 증가한 것을 알 수 있었다. 1 군보다는 2 군에서, 또한 2 군보다는 3 군에서 더 많은 우식 표면층 폭의 증가를 확인할 수 있었고 1 군

과 3 군 사이와 2 군과 3 군 사이에 통계적 유의차가 존재하였다 ($p = 0.039$). 즉, 3 군에서 1, 2 군보다 많은 우식 표면층이 증가한 것을 알 수 있었다.

2.3 각 군간 재광화 양의 정량적 평가

Figure 9, 10, 11 에서 탈회를 나타내는 그래프와 재광화를 나타내는 그래프의 중첩을 볼 수 있는데 mineral density 그래프를 보면 재광화 후의 그래프가 재광화 전의 그래프보다 전반적으로 위에 있는 것을 확인할 수 있다. Figure 9 를 보면 1 군에서는 우식 표면층에서 심부까지 전반적으로 재광화가 일어났음을 알 수 있다. Figure 10과 11은 각각 2군과 3군에 대한 탈회/재광화 그래프인데 두 그래프 모두에서 우식 표면층에서 재광화가 일어났으나 탈회된 심부로 가면서 재광화의 양이 줄어드는 것을 알 수 있다. Figure 9, 10, 11 의 그래프의 상대적 면적비가 재광화 후의 mineral density 변화로 볼 수 있고 이를 Figure 12와 Table 3 에 비교해 놓았다. 1 군은 137.20 ± 6.09 (%), 2 군은 128.38 ± 22.61 (%), 3 군은 125.17 ± 18.14 (%) 로 세 군 모두에서 재광화가 일어났으나 군간 통계적 유의차는 없었다 ($p = 0.964$). 그러나 각 군마다 재광화 양상은 다르게 나타났는데 1 군에서는 재광화가 우식 표면층과 심부에서 전반적으로 일어났으나 3 군에서는 주로 우식 표면층에서 재광화가 일어났다 ($p = 0.039$). 2 군에서는 1 군과 3 군의 중간적 양상을 보였다.

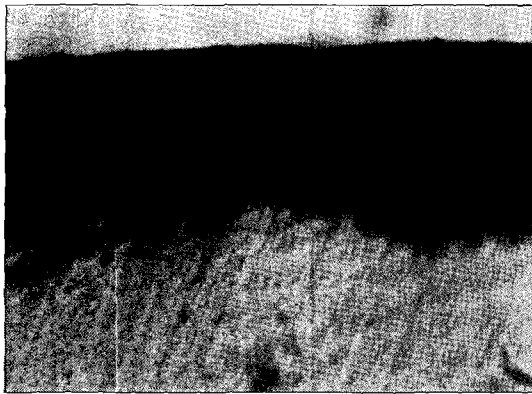


Figure 2. Polarizing microscopic observation of demineralized enamel (Group 1, $\times 100$).

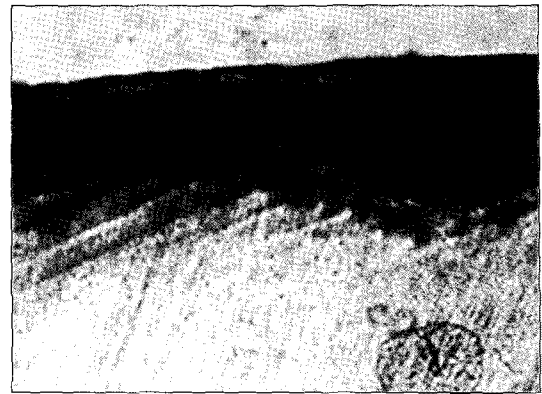


Figure 3. Polarizing microscopic observation of remineralized enamel (Group 1, $\times 100$).

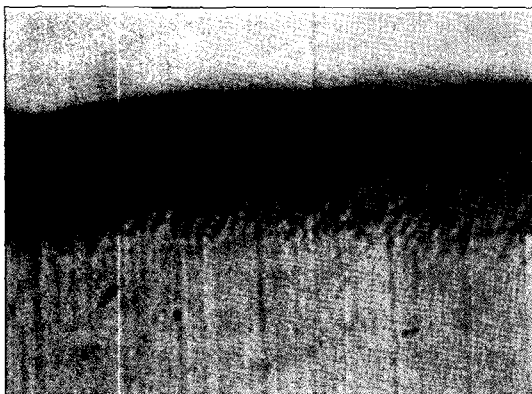


Figure 4. Polarizing microscopic observation of demineralized enamel (Group 2, $\times 100$).



Figure 5. Polarizing microscopic observation of remineralized enamel (Group 2, $\times 100$).

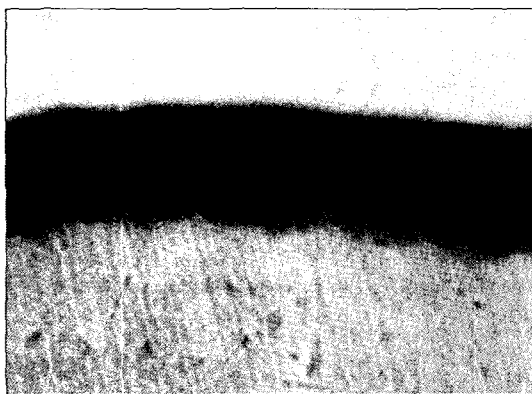


Figure 6. Polarizing microscopic observation of demineralized enamel (Group 3, $\times 100$).



Figure 7. Polarizing microscopic observation of remineralized enamel (Group 3, $\times 100$).

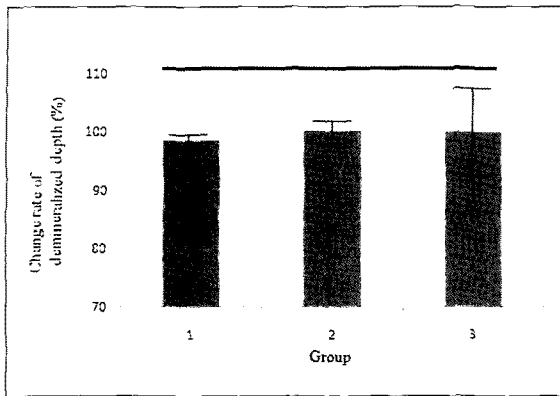


Figure 8. Change rate of demineralized depth (demineralized depth after remineralization / demineralized depth before remineralization) × 100 (%).

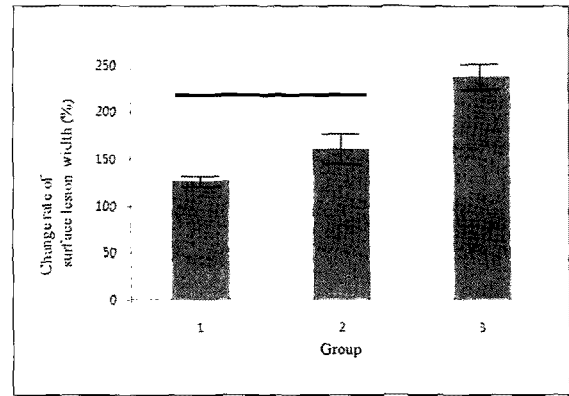


Figure 9. Change rate of surface lesion width (surface lesion width after remineralization / surface lesion width before remineralization) × 100 (%).

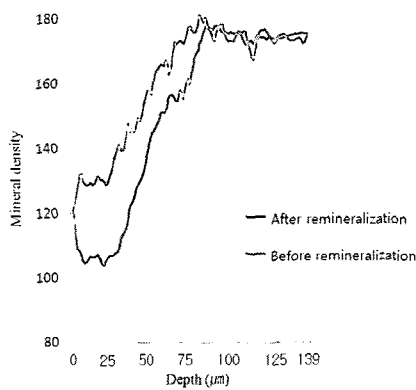


Figure 10. Comparison of density in enamel area before and after remineralization (Group 1).

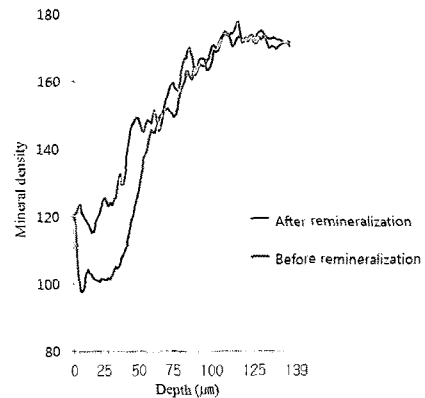


Figure 11. Comparison of density in enamel area before and after remineralization (Group 2).

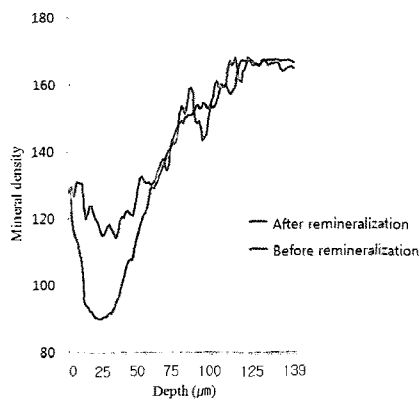


Figure 12. Comparison of density in enamel area before and after remineralization (Group 3).

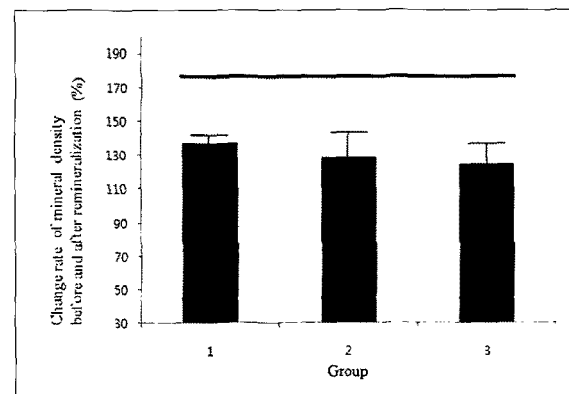


Figure 13. Change rate of mineral density before and after remineralization ((demineralized area before remineralization - demineralized area after remineralization / demineralized area before remineralization) × 100 + 100 (%))

Ⅳ. 고 찰

인공적으로 법랑질을 탈회시키는 방법은 탈회 및 재광화를 연구할 때 구강내에서 일어나는 법랑질 탈회를 재현하기 위해 많이 사용되는 방법이다³⁰⁻³². 인공적으로 치아를 탈회하여 사용하는 이유는 일반적으로 구강 내 환경에서는 법랑질 결정이 부분적으로 유기질로 덮여있어서 반응할 수 있는 표면적이 작고, 외부 용액으로의 이온 확산 속도가 느려져 재광화가 제한되기 때문이다. 또한 구강 내 법랑질은 서로 다른 인회석으로 구성되어 Ca/P 비가 다양하고 타액 단백질, 치태세균과 같은 침전 방해 인자가 존재하므로 인공 탈회의 재광화보다 복잡하고 시간이 오래 걸리기 때문이다. 또한 인공 탈회된 치아의 재광화를 연구할 때 병소를 비교적 규격화하여 재현할 수 있고 실험적 변이를 최소화할 수 있으며, 여러 가지 실험 조건을 한 병소에 적용할 수 있다는 장점이 있기 때문이다³³.

본 연구에서는 사람의 소구치에서 제작한 치아 시편을 이용하였고, 실제 36 개의 시편 (각 군당 12 개씩)을 이용하기 위해 약 90 개의 시편을 제작하여 선별하였다. 한 개 치아에서 3 ~ 9 개의 시편을 만들 수 있었으므로 말치한 지 한 달 이내의 건전한 치아 15 개를 구하였다. 그리고 시편을 각 군당 최대한 고르게 배치하되 무작위적으로 하였고 컴퓨터 프로그램 (Photoshop, Image pro plus, Scion image)을 이용하여 정확한 재현성을 위한 분석을 하였다. 사람의 말치된 지 한 달이 지나지 않은 소구치를 구하는 일이 쉽지 않았고, 실험의 특성상 불소에 거의 노출되지 않은 치아를 구해야 했는데 최근 대부분의 사람들이 불소가 함유된 치약을 오랫동안 주기적으로 사용할거라 예상되었기 때문에 이 조건을 만족시키기가 상당히 어려웠을 것으로 생각된다. 또한 proximal 부위는 많은 치아에서 초기 우식 병소가 있었고 시편을 자르기 전에는 우식이 없었던 것으로 보였던 시편에서도 편광현미경하에서 보았을 때 우식이 약간 존재한 것이 있었고 이런 시편은 실험에서 배제하였다.

치아의 우식을 관찰하고 연구하는 방법으로 일반 조직 현미경을 이용하는 방법, 편광현미경을 이용하는 방법, microradiograph를 이용하는 방법, 화학적 성분 분석을 이용하는 방법, 전자현미경을 이용하는 방법 등이 있다³⁴. 이 중 편광현미경을 이용할 경우 탈회된 각 층의 입자의 성질에 따라 복굴절의 변화가 나타나 병소의 진행에 따른 층의 구별이 가능하다. 그러나 편광현미경을 이용할 경우 병소의 깊이의 측정이 가능한 반면, 실제 무기질의 소실을 정량적으로 비교하는 것은 불가능하고, 표층에 재광화가 일어난 경우 이 부위에 어느 정도 광물질의 소실과 침착이 일어났는지를 비교할 수 없다는 단점이 있다. 따라서 편광현미경의 단점을 보완하기 위해 Photoshop program, Image

Analyzer (Image pro plus), Scion Image program, Excel을 이용하여 재광화를 정량적으로 비교하려고 하였다. Figure 9, 10, 11을 보면 약 80 ~ 100 μm 이상에서 일정한 mineral density를 보이는데 이 값이 건전한 법랑질의 mineral density 를 나타낸다. 그러나 군간의 그래프에서 약간의 변이를 관찰할 수 있는데 이는 탈회와 재광화를 시킨 후, 편광현미경 상에서 디지털 카메라를 통해 촬영한 영상을 컴퓨터 프로그램을 이용하여 완전하게 중첩시키는 과정에서 발생할 수 있는 약간의 오차와 편광현미경의 편광 정도를 정확하게 조정하는 과정에서 발생한 오차의 영향이었을 가능성이 제기된다.

인공적으로 법랑질을 탈회한 뒤의 양상을 Figure 9, 10, 11을 통해 볼 때 비슷한 형태의 탈회 양상을 보이거나 조금씩 다른 것을 확인할 수 있는데 이는 Strang 등³⁵과 이¹⁶가 언급한 바와 일치하는 결과이다. 즉, 법랑질 자체의 생물학적 변이 (치령, 식이습관, 불소 도포, 법랑질 조성의 차이, 구강 내 환경의 차이 등)가 있기 때문에 같은 법랑질이라도 탈회되는 정도가 부위에 따라 다르고 병소가 균일하게 형성되지 않으므로 실험시 일정한 값이 나오지 않았을 수 있다. 이에 본 실험에서는 가능한 오차를 줄이기 위해 한 치아로부터 얻은 시편을 각 군당 동등하게 배정하도록 노력하였으나 탈회를 시킨 후 편광현미경으로 관찰하였을 때 동일한 치아의 시편에서도 인공 탈회 깊이의 차이를 보임을 알 수 있었고 전체 인공 탈회 깊이가 약 80 ~ 100 μm 로 군마다 약간씩 차이가 있었다.

재광화에 소요되는 시간에 대해서는 논란의 여지가 있다. Silverstone 등¹⁷이 재광화 용액을 사용하여 법랑질 우식에 대한 재광화 효과를 실험한 결과, 처음 4일간 주된 변화가 일어나고 10일 이후에는 더 이상 일어나지 않았다. ten Cate 등¹⁸은 재광화 3일째부터 무기질의 침착이 감소하였고, Buskes 등³⁶은 우치에서 재광화에 소요되는 시간으로 360시간이 적당하다고 하였으나, Nancollas 등³⁷은 재광화 시 칼슘과 인의 흡수가 초기에는 급격히 일어나다가 10 - 15 시간 이후에는 정체된다고 보고하였다. White 등³⁸은 재광화 속도는 탈회된 정도가 증가할수록 약간 감소한다고 하였고, 이는 Nancollas 등³⁷의 견해와 일치하는 것으로 243 시간 탈회시킨 우식의 재광화의 속도가 96 시간 탈회시킨 우식에서보다 41 % 감소했다고 보고하였다. Moreno 등³⁹은 재광화 속도는 수산화인회석에 대한 포화된 정도에 비례하고 저농도의 불소 이온에 의해 촉진된다고 보고하였다. 김 등²⁹은 이러한 현상은 용액 내의 불소 농도의 감소와 불화인회석의 침착에 의해 더 이상의 재광화 용액이 내부로 유입되는 것이 억제되어 심부로의 불소 공급이 줄어들었기 때문이라고 하였다. 이전의 연구에서 재광화 기간을 7 ~ 10 일로 정하고 일정 기간마다 재광화 용액을 교체하면서

재광화 양상을 보았는데 본 연구에서는 pH 를 5.5 로 정하고 실험을 하였기 때문에 용액의 포화도를 맞추기 위해 칼슘과 인의 농도가 낮을 수 밖에 없었다³⁰⁾. Exterkate 등⁴⁰⁾이 언급했듯이 재광화 용액의 반응에 관여하는 물질 (본 연구에서는 칼슘과 인)의 농도가 낮을수록 병소의 깊은 부위의 재광화가 느리게 일어나므로 재광화 기간을 늘려야 한다고 하였고 이에 본 실험에서 재광화 기간을 기존의 실험에 비해 약간 늘린 12 일로 정하였다.

ten Cate 등⁴¹⁾은 재광화 과정을 보면 초기에는 표면층과 가까운 곳에서 광물의 침착이 일어나며 점진적으로 병소의 깊은 곳으로 무기물의 침착이 일어난다고 하였다. 이는 박 등²⁷⁾의 연구와도 일치하는데, 법랑질에서 재광화 용액의 포화도가 증가할수록 재광화의 양이 증가하는 경향을 보였고 포화도가 가장 높은 군에서는 무기질의 침착이 표층에 국한되는 경향을 나타내었다. 이처럼 표층에 침착된 무기질은 이후 심부의 재광화가 일어나는데 무기질 침투를 방해하는 역할을 하기 때문에 탈회 병소의 완전한 재광화를 억제할 가능성이 있다. ten Cate 등⁴¹⁾은 재광화의 진행 양상은 우식 병소 전체에 무기질이 침착하며 탈회가 적게 일어났던 병소의 가장자리부터 재광화가 된다고 하였다. 이를 근거로 본 실험 역시 재광화 용액의 포화도 (0.25, 0.30, 0.35) 수치가 높아짐에 따라 재광화의 양이 증가할 것을 예상하였지만 실제로는 그렇지 않은 결과를 얻었다. 재광화의 정량적 변화는 1, 2, 3 군에서 통계적 유의차는 없었지만 그 양상을 살펴보면 군간의 약간의 차이점이 있는 것을 알 수 있었다. 즉, 1 군의 경우 표층뿐 아니라 심부에서도 재광화가 일어났는데, 이는 그래프 상에서 85 ~ 90 μm 부위까지 탈회가 된 것이라고 생각되고 이 부위까지 재광화 그래프가 탈회 그래프 상방에 위치하는 것을 통해 알 수 있고 3 군에서는 탈회시킨 후 약 60 μm 정도까지 재광화가 일어난 양상을 볼 수 있다. 3 군과 1 군과의 전체적 재광화 양의 차이가 통계적으로 유의하지 않은 이유는 1 군의 우식 표면층과 병소 심부에 전반적으로 고르게 나타난 전체적인 재광화의 양과 3 군에서의 우식 표면층에 집중적으로 일어난 재광화의 양이 비슷하였기 때문으로 사료된다. 2 군의 경우 1 군과 3 군의 중간적인 위치에 있는데 표층의 재광화 정도와 심부로 가면서 재광화 되는 양상은 1 군과 3 군의 중간 정도가 된 것으로 보인다. 따라서 재광화의 양에 있어서 군간의 통계적 유의차는 없다고 하더라도 재광화의 양상이 포화도에 따라 차이가 있었음을 알 수 있었고, 박 등²⁷⁾이 언급했듯이 포화도가 증가할수록 주로 우식 표면층에서 재광화가 증가하는 양상을 보였다.

본 실험에서는 이전의 실험과 마찬가지로 탈회 기간을 3 일로 하였는데, 이보다 짧은 기간동안 탈회시킬 경우 재광화에 있어 유의미한 군간 차이의 가능성이 높아질 것으로

생각된다. 이는 병소 전체에 재광화가 깊은 부위까지 진행된 것은 포화도가 다른 것도 원인이 될 수 있겠지만 박 등⁴²⁾, 금 등⁴³⁾의 연구에서 100mM 의 lactic acid를 이용하여 인공 탈회를 한 경우 탈회 깊이는 약 50 ~ 70 μm 정도라고 하였고 이번 연구의 80 ~ 100 μm 보다 탈회가 덜 되었다는 근거를 통해 재광화는 탈회 깊이와도 관련이 있으리라 여겨지기 때문이다. 재광화된 양을 각 군별로 비교한 그래프 및 표에서 비록 군간에 유의차는 없었으나 평균 수치상으로는 1 군에서 가장 많은 재광화 소견을 보인 것을 알 수 있었고 그 뒤로 2 군, 3 군 순이었다. 이 결과는 박 등²⁷⁾이 언급한 것과 일치하는데, 우식 병소의 깊이가 깊을수록 재광화의 속도가 느리고, 병소의 폭이 감소된 이유가 더 깊게 형성된 병소의 경우 이온의 이동 속도와 결정의 형성이 더 느려지기 때문이라고 하였으며, 이런 경우 높은 포화도보다는 낮은 포화도에서 병소 전체의 재광화가 이루어지게 된다고 하였다. 물론 초기 우식의 명확한 기준이 있는 것은 아니지만 실험에서 재광화의 조건을 찾는 것이 이번 실험의 궁극적인 목적이기 때문에, 본 실험에서 탈회 기간을 줄였다하면 포화도가 높은 군에서 재광화가 더 잘 일어났을 것으로 추측해 볼 수 있다.

앞으로도 재광화에 최적의 조건을 찾고자 하는 연구가 계속되어야 할 것이며 낮은 포화도 용액을 사용한 실험에서 이온의 이동 속도가 느리고 수산화인회석 결정의 형성이 느리기 때문에 병소 전체에 재광화가 일어난다고 보고한 이전 연구의 결과와 이번 실험 결과를 종합하여 미루어볼 때, pH 와 포화도를 좀 더 낮추어서 실험을 진행해 보는 것도 필요할 것이다.

V. 결 론

본 연구는 탈회 완충 용액을 이용하여 법랑질을 탈회시키고 탈회된 법랑질 시편을 pH 5.5 인 재광화 용액에 노출시켰을 때 나타나는 재광화 현상을 편광현미경과 디지털 카메라로 이미지를 얻은 후에 컴퓨터 프로그램을 통해 정량적으로 분석하였다. 이에 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 재광화 후 모든 군에서 우식 표면층의 폭은 증가하였다.
2. 재광화 후 1 군에서는 우식 표면층과 병소 심부 모두에서 전반적으로 고르게 재광화가 일어나는 양상이 나타났다.
3. 재광화 후 2, 3 군에서는 심부보다는 우식 표면층 부위의 재광화가 더 많이 일어났고, 3 군에서 우식 표면층의 재광화가 가장 많이 일어났다.
4. 재광화 후의 시편의 탈회된 깊이의 변화는 탈회시킨 후와 비교할 때 모든 군에서 두드러지게 나타나지 않았고

군간의 통계적 유의차도 없었다. 즉, pH 5.5 에서 재광화 용액의 포화도 변화에 따른 추가적인 탈회는 크게 나타나지 않았다.

결론적으로, 본 실험의 조건에서 포화도가 가장 낮았던 군에서는 우식 표면층에서 우식 심부까지 전반적으로 재광화가 골고루 일어난 반면, 포화도가 높아질수록 우식 표면층의 폭은 증가하였으나 우식 심부는 큰 변화를 보이지 않는 양상을 나타냈다. 한편, 포화도와 상관없이 재광화 후에 탈회의 깊이에는 큰 변화가 없었다.

참고문헌

- Ingram GS, Silverstone LM. A chemical and histological study of artificial caries in human dental enamel in vitro. *Caries Res* 15:393-398, 1981.
- Shellis RP. Relationship between human enamel structure and the formation of caries-like lesions. *Arch Oral Biol* 29:975-981, 1984.
- Silverstone LM. Observation on the dark zone in early enamel caries and artificial like lesions. *Caries Res* 1:267-274, 1967.
- Brudevold F, McCann HG. Enamel solubility tests and their significance in regard to dental caries. *Ann N.Y. Acad Sci* 153:20-51, 1968.
- Brown WE, Patel PR, Chow LC. Formation of $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ from enamel mineral and its relationship to caries formation. *J Dent Res* 54:475-481, 1975.
- Christoffersen J, Arends J. Progress of artificial lesion progression in enamel. *J Dent Res* 63:13-18, 1984.
- Featherstone JDB, Duncan JF, Cutress TW. Surface layer phenomenon in vitro early caries-like lesions in human tooth enamel. *Arch Oral Biol* 23:397-404, 1978.
- Moreno EC, Zahradnik RT. Chemistry of enamel sub-surface demineralization in vitro. *J Dent Res* 53:226-235, 1974.
- Englander HR, Carter WMJ. The formation of lactic acid in dental plaque(III). *J Dent Res* 35:792-799, 1956.
- Margolis HC, Moreno EC. Kinetic and thermodynamic aspect of enamel demineralization. *Caries Res* 19:22-35, 1985.
- Margolis HC, Moreno EC. Kinetics of hydroxyapatite dissolution. *J Dent Res Abstr.* #1546, 1990.
- Margolis HC, Moreno EC, Murphy BJ. Development of caries like lesions in partially saturated lactate buffers. *Caries Res* 19:36-45, 1985.
- Gray JA. Kinetics of enamel dissolution during formation of incipient caries-like lesions. *Arch Oral Bio Apr* 11:397-422, 1966.
- Theuns HM, Van Dijk JWE, Groneveld A. Effect of time and degree of saturation of buffer solutions on artificial carious lesion formation in human tooth enamel. *Caries Res* 17:503-512, 1983.
- Kapur KK, Fischer EF, Manly RS. Influence of type of acid, pH, molarity, saturation in rate of enamel penetration. *J Dent Res* 41:760-770, 1962.
- 이찬영. 산 완충 용액을 이용한 인공 치아 우식 형성. 연세치대 논문집 7:34-41, 1992.
- Silverstone LM, Wefer JS, Zimmerman BF, Clark BH, Featherstone MJ. Remineralization phenomena. *Caries Res* 11:59-84, 1977.
- ten Cate JM, Duijsters PPE. Alternating demineralization and remineralization of artificial enamel lesions. *Caries Res* 16:201-210, 1982.
- ten Cate JM, Arends J. Remineralization of artificial enamel lesions in vitro. *Caries Res* 15:60-69, 1981.
- ten Cate JM, Arends J. Remineralization of artificial enamel lesions in vitro. *Caries Res* 11:277-284, 1977.
- 한원섭, 금기연, 이찬영. 인공 치아 우식의 재광화에 미치는 불소의 영향. *대한치과보존학회지* 21:161-173, 1996.
- Feagin F, Patel PR, Koulourides T, Pigman W. Study of the effect Ca, P, F and hydrogen ion concentrations on the remineralization of partially demineralized human and bovine enamel surfaces. *Arch Oral Biol* 16:535-548, 1971.
- Featherstone JDB, Rodger BF. Effect of acetic, lactic and other organic acids on the formation of artificial caries lesion. *Caries Res* 15:377-385, 1981.
- Nikiforuk MJ. Environmental hypersensitivity living in a hostile world. *Can Nurse* 81:42-46, 1985.
- Margolis HC, Moreno EC, Murphy BJ. Effect of low levels of fluoride in solution on enamel demineralization. *J Dent Res* 65:23-29, 1986.
- Lammers PC, Borggrevén JM, Driessens FC. Influence of fluoride and pH on in vitro remineralization of bovine enamel. *Caries Res* 26:8-13, 1992.
- 박정원, 허복, 이찬영. 유기산 완충 용액의 포화도가 법랑질 및 상아질의 재광화에 미치는 영향과 수산화인회석의 AFM 관찰. *대한치과보존학회지* 25:459-473, 2000.
- 김민경, 금기연, 이찬영. 법랑질 인공 우식의 재광화에 미치는 pH의 영향에 관한 연구. *대한치과보존학회지* 22:193-208, 1997.
- 김성철, 이찬영. 재광화 완충 용액의 pH 변화가 상아질의 재광화에 미치는 영향. *대한치과보존학회지* 32:151-161, 2007.
- Margolis HC, Zhang YP, Lee CY, Kent RL Jr, Moreno EC. Kinetics of enamel demineralization in vitro. *J Dent Res* 78:1326-1335, 1999.
- ten Cate JM. In vitro studies on the effects of F on de- and remineralization. *J Dent Res* 69:614-619, 1990.
- White DJ. The use of synthetic polymer gels for artificial carious lesion preparation. *Caries Res* 21:228-242, 1987.
- Featherstone JDB. Comparison of artificial caries like lesions by quantitative microradiography and microhardness profile. *Caries Res* 17:385-391, 1983.
- Arends J, Jongebloed W, Ogaard B, Rolla G. SEM and microradiographic investigation of initial enamel caries. *Scand J Dent Res* 95:193-201, 1987.
- Strang R, MacDonald I, Creanor SL, Stephen KW. Mineral content variations in demineralized enamel (abstract). *Caries Res* 20:185, 1986.
- Bruskes JA, Christoffersen J, Arends J. Lesion formation and lesion remineralization in enamel under constant composition condition. *Caries Res* 19:490-496, 1985.
- Nancollas GH, Purdie N. The kinetics of crystal growth. *Quart Rev* 18:1-20, 1964.
- White DJ, Chen WC, Nancollas GH. Kinetic and physical aspects of enamel remineralization. *Caries Res* 22:11-19, 1988.
- Moreno EC, Zahradnik RT. Demineralization and rem-

- ineralization of dental enamel. J Dent Res 58:896-902, 1979.
40. Exterkate RAM, Damen JJM, ten Cate JM. A single-section model for enamel de- and remineralization studies. 1. The effects of different Ca/P ratios in remineralization solutions. J Dent Res 72:1599-1603, 1993.
41. ten Cate JM, Arends J. Remineralization of artificial enamel lesions in vitro. III. A study of the deposition mechanism. Caries Res 14:351-358, 1980.
42. 박성호, 이찬영, 이정석. 유산 완충액을 이용한 인공 치아 우식의 형성에 미치는 산의 농도와 pH에 관한 연구. 대한치과보존학회지 18:277-290, 1993.
43. 금기연, 이찬영. 수종의 유기산이 법랑질 인공 우식의 형성에 미치는 영향. 대한치과보존학회지 21:470-488, 1996.

국문초록

pH 5.5에서 재광화 용액의 포화도 변화가 인공 탈회된 법랑질의 재광화에 미치는 영향

곽영준 · 김의성 · 박성호 · 공형규 · 이 윤 · 이찬영*

연세대학교 치과대학 치과보존학교실

초기 법랑질 우식의 경우 주위의 pH, 유기산의 종류 및 농도, 치아의 무기질 및 유기질의 화학적 조성, 불소의 농도, 용액의 포화도 등에 의해 영향을 받는다고 하였다.

본 연구에서는 lactic acid를 이용하여 법랑질을 인공 탈회시키고, pH 5.5인 포화도가 다른 세 가지 재광화 용액 (포화도: 0.25, 0.30, 0.35)으로 12일간 처리한 후, 편광 현미경에서 얻은 상에서 탈회 깊이의 변화, 우식 표면층 폭의 변화, 무기질의 양적 변화를 Photoshop, Image pro plus, Scion Image, Excel을 이용하여 비교, 분석하였다.

1. pH 5.5 에서 재광화 용액의 포화도가 증가할수록 우식 표면층의 폭은 증가하였다.
2. pH 5.5 에서 1 군의 경우 우식 부위에 전반적으로 재광화가 일어났으나, 3 군의 경우 우식 표면층에서만 재광화의 양상이 뚜렷하게 나타났고, 2 군에서는 1 군과 3 군의 중간적인 양상이 나타났다. 한편, 3 군의 경우 1, 2 군보다 우식 표면층의 폭이 유의하게 증가하였다.

결론적으로 본 실험의 조건에서 포화도가 가장 낮았던 군에서는 우식 표면층에서 우식 심부까지 전반적으로 재광화가 일어난 반면, 포화도가 높아질수록 우식 표면층의 폭은 증가하였으나 우식 심부에서는 큰 변화를 보이지 않는 양상이 나타났다.

주요단어 : 탈회, 재광화, pH, 포화도