재광화 완충 용액의 pH 변화가 법랑질의 재광화에 미치는 영향

연세대학교 대학원 치의학과 윤 근 영

재광화 완충 용액의 pH 변화가 법랑질의 재광화에 미치는 영향

지도 이 찬 영 교수

이 논문을 석사 학위논문으로 제출함

2009년 6월 일

연세대학교 대학원

치의학과

윤 근 영

2009년 6월 일

연세대학교 대학원

심사위원	<u>ગ</u>
심사위원	<u>인</u>
심사위원	인

윤근영의 석사 학위논문을 인준함

감사의 글

이 논문이 완성되기까지 전 과정에 걸쳐 아낌없는 지도를 해주신 이찬영 교수님께 진심으로 감사드립니다. 또한 논문의 부족한 부분을 지적하고 조언을 해주신 김의성 교수님, 박정원 교수님, 윤태철 교수님께도 깊은 감사를 드립니다.

실험을 하는데 있어서 어려운 일이 있을 때마다 도움을 주었던 박진성 선생에게도 특별히 감사의 뜻을 전합니다. 또한 영문 교정과 실험을 도와준 김귀영 선생, 김지연 선생, 궂은 일을 맡아준 신한얼 선생에게도 감사드립니다.

또한 막히는 부분이 있을 때마다 해결책을 제시해 주신 곽영준 선생님과 이지숙 선생님께도 감사의 마음을 전합니다.

마지막으로 논문을 준비하는 동안 항상 마음의 큰 의지가 되어준 진숙이와 항상 걱정해 주시고 응원해 주셨던 부모님께 감사드리며 이 논문을 바칩니다.

2009년 6월 저자 씀

차 권]]
-----	----

그림 차례
표 차례iii
국문 요약iv
I. 서 론1
Ⅱ. 재료 및 방법
1. 시편제작
2. 실험 용액의 제조5
3. 법랑질 인공 우식의 형성 및 관찰7
4. 법랑질 인공 우식의 재광화 및 관찰8
5. 실험 자료의 분석 및 통계8
III. 결 과
1. 편광 현미경 관찰 소견10
2. Image program을 이용한 분석16
IV. 고 찰
V. 결 론
참고 문헌
Abstract 34

Figure 1.	Polarizing microscopic observation of demineralized enamel (Group 1)12
Figure 2.	Polarizing microscopic observation of remineralized enamel (Group 1)12
Figure 3.	Polarizing microscopic observation of demineralized enamel (Group 2)12
Figure 4.	Polarizing microscopic observation of remineralized enamel (Group 2)12
Figure 5.	Polarizing microscopic observation of demineralized enamel (Group 3)12
Figure 6.	Polarizing microscopic observation of remineralized enamel (Group 3)12
Figure 7.	Polarizing microscopic observation of demineralized enamel (Group 4)······13
Figure 8.	Polarizing microscopic observation of remineralized enamel (Group 4)13
Figure 9.	Change of demineralized depth and Change of surface lesion width
Figure 10.	Change of demineralized depth14
Figure 11.	Change of surface lesion width15
Figure 12.	Comparison of density in enamel before and after remineralization (Group 1)17
Figure 13.	Comparison of density in enamel before and after remineralization (Group 2)18
Figure 14.	Comparison of density in enamel before and after remineralization (Group 3)18
Figure 15.	Comparison of density in enamel before and after remineralization (Group 4)19
Figure 16.	Mineral density change of enamel after remineralization
Figure 17.	Mineral density change after remineralization20

표 차례

Table 1.	Composition of demineralization solution
Table 2.	Composition of remineralization solution7
Table 3.	Change of demineralized depth in Group 1, 2, 3, 4 ······ 14
Table 4.	Change of surface lesion width in Group 1, 2, 3, 4 ······ 15
Table 5.	Mineral density change (%) of enamel after remineralization

재광화 완충 용액의 pH 변화가

법랑질의 재광화에 미치는 영향

법랑질의 우식은 무기질의 탈회와 침착이 동시에 일어나는 현상이며, 초기 법랑질 우식의 경우 재광화가 일어남이 밝혀져 왔다. 초기 치아 우식을 치유 하기 위한 최적 조건을 결정하기 위한 다수의 연구들이 시행되었고, pH, 유기 산의 농도, degree of saturation, 치아의 무기질 및 유기질의 화학적 조성, 불소의 농도 등이 치아 우식과 재광화에 영향을 미친다고 알려져 왔다. 따라서 이번 연구는 유산 완충 용액의 농도와 degree of saturation을 일정하게 한 상태로 pH 변화에 따른 법랑질에서 인공 우식 병소의 재광화 양상을 관찰하였다.

본 연구에서는 인공적으로 탈회된 법랑질을 pH 를 4.3, 5.0, 5.5, 6.0으로 달 리한 4가지 재광화 용액에 7일간 처리하였고, 여기서 나타난 변화를 편광현미 경으로 관찰하여 탈회 깊이와 건전 표층 폭의 변화를 측정하였다. 또한 computer program을 이용하여 탈회와 재광화 후 촬영하여 얻은 상으로부터 lesion 부위의 평균 density를 비교하여 무기질 변화량의 측정을 통해 인공 탈 회된 법랑질의 동력학적 변화를 관찰하였다.

 pH 가 낮은 1, 2군에서는 건전 표층부터 표층하 탈회부까지 전반적인 재광화 경향이 관찰되었으나, 동시에 전체적인 탈회 깊이도 증가하는 경향을 보였다.

iv

pH 가 높은 4군에서는 재광화 양상이 표층부에만 국한되는 경향을
보였고, 전체 탈회 깊이에는 변화가 없었다.

3. pH가 낮을수록 재광화가 더 많이 일어나는 경향을 보였다.

결론적으로 포화도가 일정(0.25)한 pH 4.3, 5.0, 5.5, 6.0 의 재광화 용액에서도 탈회 현상과 재광화 현상이 동시에 일어나는데, pH 가 낮을수록 표면층에서부터 병소의 심부까지 전반적인 재광화 양상을 보이고, pH가 높을수록 표면층에서 더 많은 재광화 현상이 일어났으나 병소의 심부 쪽에는 재광화 현상이 적게 일어나는 경향을 보였다. pH가 낮을수록 재광화가 더 많이 일어나는 경향을 보였으나 통계학적 유의차는 없었다.

핵심되는 말: 탈회, 재광화, pH, 포화도

재광화 완충 용액의 pH 변화가 법랑질의 재광화에 미치는 영향

연세대학교 대학원 치의학과

(지도 교수 : 이 찬 영)

연세대학교 대학원 치의학과

윤 근 영

I. 서론

치아 우식증은 치면 위의 치태 내에 존재하는 세균, 음식물과 타액의 상호 작용으로 산이 생성되어 치질의 파괴가 일어나는 질환이다. 법랑질은 구강 내 환경의 조건에 따라 광물질의 탈회와 침착이 동시에 일어나는 동적인 과정을 밟게 된다. 구강 내에서 생성되는 산에 의하여 법랑질은 탈회가 진행되고 치아 우식증이 야기되는데, 이 시기의 환경적인 요건에 따라 우식증이 진행되거나 재광화가 일어나는 것으로 알려져 있다. Head(1912)에 의해 산 부식 된 법랑질의 재광화 현상이 최초로 보고된 이래, Anderson(1938), Dirks(1966) 등 많은 연구자들이 법랑질 초기 우식 병소가 재 석회화됨을 입증함으로써 구강 내 환경에 따라 병소의 탈회 과정이 중단되거나 재경화될 수 있음을 보였다. 초기 우식 병소가 재광화 될 수 있다는 임상적 증거의 결과로 다수의 재광화 실험이 행해졌다. Ten Cate 등 (1981)은 우식 병소의 재광화 과정에 대해, 수산화인회석이 초기에 표층 근처에서 시작되어 점차 안쪽으로 진행되어 결국 암층에 침전된다고 설명하였고, Moreno 등(1974)은 solubility diagram 을 통하여 법랑질과 dicalcium phosphate dehydrate (DCPD)의 용해를 나타내고, 이들이 만나는 점인 singular point 상부에서 법랑질이 DCPD 로 바뀌면서 법랑질 표면에서 침착된다고 하였다.

알려진 바와 같이 치아 우식증은 우식이 진행되는 방향으로만 일어나는 것이 아니라 우식과 재광화가 동시에 일어나기 때문에 치아 우식의 정도를 변화시키는 여러 조건들 (pH, 불소 농도, 포화도 등)이 재광화 실험에서도 같이 고려되어야 한다.

재광화에 있어 pH 의 효과에 대해서는 많은 연구가 있었으나 아직 논란이 되고 있다. Feagin 등(1971)에 의하면 재광화와 완충 용액의 pH 증가 사이에는 비례적 상관 관계가 있다고 하였고, Featherstone 등(1981)은 재광화에 적당한 pH를 6-8 이라고 보고하였다. 반면, Margolis 등(1986)은 1ppm 의 불소가 포함된 산성 용액 처리시 법랑질의 불소 함유량이 증가한 데 반해 중성 용액 처리시 전혀 불소의 유입이 관찰되지 않음을 보고하고, 이는 재광화에 있어 산성 용액이 중성

용액보다 효과가 있음을 의미한다고 하였다. 박 등(2000)은 중성에 가까운 pH 에서 무기질의 침착이 표층부위에 국한되어 일어났기 때문에 재광화 용액의 pH 를 낮추었다고 하였고, 이처럼 pH 를 낮추어서 재광화를 진행할 경우 탈회의 과정과 동시에 탈회된 병소의 심층부에서 무기질이 침착 되는 효과를 보기 위함이라고 하였다. 그러나 김 등(1997)의 연구에 의하면 pH 가 5.5 에서 다른 pH 보다 더 나은 재광화 양상을 나타냈다고 하였고, 김 등(2007)의 연구에서도 비록 법랑질이 아닌 상아질에서 시행한 실험이지만, pH 4.3 과 5.0 에서는 재광화 후에 재탈회가 일어난 반면, pH 5.5 인 경우 재광화시 추가적인 탈회 부위 없이 재광화가 일어났다고 보고하였다. 또한 권 등(2006)에 의하면 재광화 실험에서 pH 6.0 에서는 무기질의 침착이 표층 부위에 국한되어 일어났고, pH 4.3 에서는 건전 표층과 병소 심층부에서 무기질 침착이 관찰되었다.

재광화와 포화도의 관계에 대한 연구에서 박 등(2000)은 포화도가 가장 높은 군에서는 무기질의 침착이 표층에 국한되는 경향을 나타내었다고 하였고, 이 등(2009)은 pH4.3인 재광화 용액에 처리 시 포화도가 낮은 군에서는 이온의 침착이 병소 전반적으로 일어났으나, 포화도가 높을수록 건전 표층에서 더 많은 재광화 현상이 일어났고 표층하 병소에서는 재광화 현상이 적게 일어났다고 하였다. 또한 곽 등(2009)도 포화도가 가장 낮았던 군에서는 우식 표면층에서 우식 심부까지 전반적으로 재광화가 일어난 반면, 포화도가 높아질수록 우식 표면층의 폭은 증가하였으나 우식

재광화와 불소의 관계에 대한 연구에서는 불소 첨가 시 재광화가 촉진된다는 주장이 있는 반면에, Lammers 등(1990)은 2ppm의 불소 첨가 시 무기질의 심부

이동이 차단되어 불소가 없는 경우보다 재광화가 억제됨을 보고하였고, Amjad 등(1979)은 0.1~1ppm의 불소가 포함된 경우 재광화가 방해된다고 하였으므로 이번 연구에서는 불소의 영향을 배제하고 실험해 보고자 하였다.

이에 이번 연구에서는 개별 요소가 치아 우식의 재광화에 미치는 영향을 알아보기 위해, 유산의 농도와 degree of saturation을 일정하게 하여 재광화 완충 용액에서의 pH 변화에 따른 법랑질 인공 우식 병소의 재광화 양상을 관찰하고자 한다.

Ⅱ. 재료 및 방법

1. 시편제작

우식이 없고 탈회되지 않은 발거된 지 1달 이내의 건전한 소구치를 선택하여 치면에 부착된 연조직과 치석을 periodontal curette으로 제거하고 불소가 포함되지 않은 연마제로 치면을 연마 후 초음파 세척기로 10분간 세정하고 증류수로 세척 건조하였다.

10ml 용 시린지를 이용하여 높이 1cm, 직경 1cm 의 tube를 제작하고 여기에 치과용 아크릴 레진을 이용하여 치근 부위만 매몰하였다. 경화 후 저속 diamond wheel saw (Minitom, Struers, Denmark)를 이용하여 치아 장축에 평행하게 협설 방향으로 0.4-0.5mm 의 절편을 만든 다음 #800, #1200 사포 (Deer abrasive, 고려, 한국)를 이용하여 0.15-0.20mm 두께로 연마하였다. 연마 후 초음파 세척기로 10분간 세정한 후 협설 측의 손상이나 균열이 없는 법랑질 부위 중 약 2-3mm 정도의 window를 제외하고 bonding agent (Scotchbond MP, 3M, U.S.A)와 nail varnish를 도포하였다. 1군당 12개의 시편이 되도록 하여 총 48개의 시편을 준비하였다.

2. 실험 용액의 제조

가. Stock 용액의 제조

30% 유산용액 (Sigma Co., St. Louis., U.S.A. 분자량 90.09, 밀도 1.080) 을 이용하여 1M 의 lactic acid용액을 제조, 적정하여 0.978M을 얻어서 이를 stock solution 으로 사용하였다. 염화 칼슘 분말 (Sigma Co., St. Louis., U.S.A. 분자량 136.1)을 이용하여 0.3M의 용액을 제조하여 Ion chromatography (790 Personal Ion Chromatography, Metrohm, Switzerland)로 정량 분석한 결과 0.322M을 얻었고, 인산칼륨 분말 (Sigma Co., St. Louis., U.S.A. 분자량 136.1)을 이용하여 0.9M 의 용액을 제조하여 정량분석 결과 0.88M을 얻어서 이를 stock solution으로 사용하였다.

나. 탈회 완충용액의 제조

stock 용액으로부터 계산된 양을 취하고, 3.08mM sodium azide (NaN₃)를 첨가한 다음, pH meter (Model 920A, Orion Research Inc., U.S.A.) 계측 하에 8N 수산화칼륨 표준용액을 첨가하여 pH 4.3이 되도록 조절하였다. 위 용액을 Ion chromatography (790 Personal Ion Chromatography, Metrohm, Switzerland)로 각 이온의 농도를 다시 정량 분석하여 Table 1의 농도를 얻었고, 이를 시편의 탈회 용액으로 사용하였다.

Composition	Concentration
Lactic acid (mM)	100
Calcium (mM)	17.88
Phosphate (mM)	6.44
Sodium azide (mM)	3.08
pН	4.3

Table 1. Composition of demineralization solution

다. 재광화 완충 용액의 제조

Stock solution에서 계산된 양의 lactic acid, calcium, phosphate를 취하고, 3.08mM NaN₃을 첨가하였으며, 8N 수산화 칼륨 표준용액으로 각각 pH가 4.3, 5.0, 5.5, 6.0이 되도록 4군의 재광화 용액을 만들었다. 각 군의 degree of saturation은 0.25를 기준으로 조절하였다. 이렇게 만든 용액을 Ion chromatography (790 Personal Ion Chromatography, Metrohm, Switzerland)로 정량 분석한 후 시편의 재광화 용액으로 사용하였다(Table 2).

Composition	Group				
	1	2	3	4	
Lactic acid (mM)	100	100	100	100	
Calcium (mM)	30.01	7.13	2.47	1.02	
Phosphate (mM)	13.27	3.71	1.43	0.51	
Sodium azide (mM)	3.08	3.08	3.08	3.08	
рН	4.3	5.0	5.5	6.0	

Table 2. Composition of remineralization solution

3. 법랑질의 인공 우식의 형성 및 관찰

50ml 플라스틱 통에 탈회 완충용액 30ml를 채우고 시편을 통의 중앙에 위치하도록 설치한 후, 섭씨 25℃ 항온조에 2일간 반응시켰다. 시편은 편광현미경 (I221, 동원 정밀, 한국)하에서 증류수에 침윤시켜 100배 배율로 디지털 카메라 (Coolpix 950, Nikon corporation, Japan)로 0, 1, 2일 후 사진 촬영하였다.

4. 법랑질의 인공 우식의 재광화 및 관찰

50ml 플라스틱 통에 재광화 완충용액 30ml 를 채우고 시편을 통의 중앙에 위치하도록 설치한 후, 섭씨 25℃ 항온조에 10일간 반응시켰고, 이 때 용액을 2-3일 간격으로 교체하였다. 시편은 편광현미경하에서 증류수에 침윤시켜 100배에서 디지털 카메라로 1,2,4,7,10일에 사진 촬영하였다.

5. 실험 자료의 분석 및 통계

편광현미경을 이용하여 시편을 100배로 관찰하고, 현미경에 연결된 디지털 카메라로 촬영한 후, 전체 탈회 깊이의 평가를 위해 병소에 수직 5등분선을 선택하여 표면에서 양성 복굴절 끝까지 수직 길이를 측정하고 0.01mm 표시된 슬라이드로 촬영한 상과 그 길이를 환산하여 각 군간 평균값을 계산하였다.

또한 건전 표면층의 폭은 표면에서 건전 표면층의 음성 복굴절 끝까지의 수직길이를 위와 같은 방법으로 산출하였다. 이후 전체 탈회 깊이의 변화율은 재광화 후 전체 탈회 깊이를 탈회 후 전체 탈회 깊이로 나누어 백분율로 확인하였고, 건전 표면층 폭의 변화율도 재광화 후 건전 표면층 깊이를 탈회 후 건전 표면층 깊이로 나누어 백분율로 확인하였다.

Photoshop 프로그램 (Photoshop 7, Adobe, U.S.A.)을 이용하여 디지털 카메라로

촬영한 시편의 재광화 전후 사진을 흑백 사진으로 변환하고 정상 법랑질 부위의 density가 동일해지도록 조절한 후, 동일 부위를 중첩시켜 동일면적을 얻었다. 이를 Scion Image analyzer (Scion Corporation, Maryland, U.S.A)로 density를 측정하고, spread sheet program (Excel, Microsoft, U.S.A.)으로 graph를 재구성하였다. 이 graph의 면적을 계산하여 탈회가 일어난 양과 재광화가 일어난 양을 백분율로 분석하였다.

위의 결과를 바탕으로 재광화 군간의 비교를 SPSS 11.5 program (SPSS inc., U.S.A.)을 통해 one-way ANOVA로 통계 처리하였다.

III.결과

1. 편광 현미경의 관찰 소견

가. 법랑질 탈회 소견

편광현미경하에 증류수를 침윤시켜 100배로 관찰한 결과, 법랑질 초기 우식 병소의 특징적인 건전 표층(surface zone)과 표층하 탈회부(subsurface lesion)가 관찰되었다. 대부분의 시편에서 건전 표층은 비교적 연속적으로 관찰되었고, 정상 법랑질과 유사한 음성 복굴절을 나타내었다. 표층하 탈회부는 황갈색으로 양성 복굴절 양상을 보이고, 중앙부에서 병소 외곽으로 퍼져나가는 양상으로 관찰되었다 (Fig. 1, 3, 5, 7).

나. 법랑질 재광화 소견

1) Group 1의 재광화 소견

재광화가 진행됨에 따라 탈회 시편에 비해 건전 표층이 뚜렷해지고 연속성이 증가하였지만, 전체 표층하 탈회부의 깊이는 증가하는 경향을 보였다. 탈회 내부에 전반적으로 재광화가 진행되는 것을 관찰할 수 있었다 (Fig. 2).

2) Group 2의 재광화 소견

재광화가 진행됨에 따라 1군과 비슷하게 건전 표층은 더 뚜렷해지고 연속성이 증가하였지만, 전체 표층하 탈회부의 깊이 역시 증가하는 양상을 보였다 (Fig. 4).

3) Group 3의 재광화 소견

재광화가 진행됨에 따라 건전표층이 더욱 뚜렷해졌으나, 1,2군에 비해 전체 표층하 탈회부의 깊이 증가는 확연치 않았다 (Fig. 6).

4) Group 4의 재광화 소견

3군과 마찬가지로 재광화가 진행됨에 따라 건전표층이 더욱 뚜렷해졌으나, 1,2군에 비해 전체 표층하 탈회부의 깊이 증가는 확연치 않았다 (Fig. 8).

5) pH 차이에 따른 Group 1, 2, 3, 4간 비교

실험군 모두에서 재광화 후 탈회 깊이가 증가되었는데, pH 에 따른 전체 탈회 깊이 변화률은 1군 131.7±24.8%, 2군 112.4±15.2%, 3군 111.0±23.7%, 4군 104.0±15.3%로 pH가 증가함에 따라 전체 탈회 깊이의 변화율은 감소하는 경향을 보였으나 통계적 유의차는 없었다 (Table 3) (Fig. 10). 건전 표층의 폭의 변화률은 1군 132.2±7.8%, 2군 127.2±15.2%, 3군 124.2±19.2%, 4군 117.4±24.5로 pH가 감소함에 따라 건전표층 폭의 변화률이 증가하는 경향을 보였으나, 역시 통계적 유의차는 없었다 (Table 4) (Fig. 11). pH 가 낮은 1,2군에서는 재광화 양상이 탈회부위에 전반적으로 보이는 반면, pH 가 높은 4군에서는 건전 표층에 국한된 재광화 양상을 보였다.



Fig. 1. Polarizing microscopic observation of demineralized enamel (Group 1, X 100).



Fig. 2. Polarizing microscopic observation of remineralized enamel (Group 1, X 100).



Fig. 3. Polarizing microscopic observation of demineralized enamel (Group 2, X 100).



Fig. 5. Polarizing microscopic observation of demineralized enamel (Group 3, X 100).



Fig. 4. Polarizing microscopic observation of remineralized enamel (Group 2, X 100).



Fig. 6. Polarizing microscopic observation of remineralized enamel (Group 3, X 100).



Fig. 7. Polarizing microscopic observation of demineralized enamel (Group 4, X 100).



Fig. 8. Polarizing microscopic observation of remineralized enamel (Group 4, X 100).



Fig. 9. Change of demineralized depth = $b/a \approx 100$ (a : demineralized depth after demineralization, b : demineralized depth after remineralization)

Change of surface lesion width = d/c * 100 (c : surface lesion width after demineralization , d : surface lesion width after remineralization)

Red : subsurface lesion after demineralization, Blue : subsurface lesion after remineralization

	Group 1	Group 2	Group 3	Group 4	F	Sig.
Change of	$131.7\pm$	112.4±	111.0±	104.0±	2.851	.053
demineralized depth	24.8	15.2	23.7	15.3		
(%)						
demineralized depth	102.9	107.0	118.8	126.6		
after	± 24.8	± 29.9	± 51.1	± 42.2		
demineralization(a)						
(µm)						
demineralized depth	138.6	120.1	131.8	130.1		
after	± 63.7	± 40.2	± 55.9	± 55.9		
remineralization(b)						
(µm)						

Table 3. Change of demineralized depth in Group 1, 2, 3, 4

*Change of demineralized depth = demineralized depth after remineralization /

demineralized depth after demineralization x 100 (%) = b/a * 100 (%)



Fig. 10. Change of demineralized depth = b/a * 100 (a : demineralized depth after

demineralization, b: demineralized depth after remineralization)

	Group 1	Group 2	Group 3	Group 4	F	Sig.
	100.01	105.01	104.01			101
Change of surface	$132.2\pm$	$127.2\pm$	$124.2\pm$	$117.4\pm$.826	.491
lesion width (%)	7.8	15.2	19.2	24.5		
surface lesion width	20.6	22.5	21.0	21.5		
after	± 5.8	± 4.9	± 6.7	± 8.5		
demineralization(c)						
(µm)						
surface lesion width	28.9	29.7	27.9	25.6		
after	± 6.6	± 7.9	± 8.6	± 6.2		
remineralization(d)						
(µm)						

Table 4. Change of surface lesion width in Group 1, 2, 3, 4

*Change of surface lesion width = surface lesion width after remineralization / surface lesion width

after demineralization x 100 (%) = d/c * 100 (%)



Fig. 11. Change of surface lesion width = d/c * 100 (c : surface lesion width after demineralization, d : surface lesion width after remineralization)

2. Image Program을 이용한 분석

가. 법랑질 탈회 소견

표층하 탈회부는 낮은 density를 보이고 있고 정상 법랑질 쪽으로 갈수록 density 가 증가하였고, 건전표층은 표층하 탈회부에 비해 높은 density 를 보이고 있으나 정상 법랑질에 비해서는 낮은 density를 보이고 있다.

나. 법랑질 재광화 소견

1) Group 1 의 재광화 소견

탈회소견에 비해 재광화시 건전표층과 표층하 탈회부에 전반적으로 이온이 침착 되어 density가 높아지는 것을 관찰할 수 있었다 (Fig. 12).

2) Group 2 의 재광화 소견

탈회 소견에 비해 재광화시 전반적인 탈회부의 density가 높아져서 이온의 침착이 일어난 것을 알 수 있었다 (Fig. 13).

3) Group 3 의 재광화 소견

탈회부에 전반적인 재광화 양상을 보여 density 가 높아졌으나 1,2군에 비해서는 심부까지 재광화가 진행되지는 않았다 (Fig. 14).

4) Group 4의 재광화 소견

재광화가 비교적 건전 표층부에 국한되어 나타났고 심부의 표층하 병소의 재광화는 관찰되지 않았다 (Fig. 15).

5) pH 차이에 따른 Group 1, 2, 3, 4간 무기질 변화 비교

각 군간의 재광화 용액 처리 후에 density의 변화율은 1군 129.4±21.39%, 2군 120.0±18.25%, 3군 116.7±15.30%, 4군 107.0±16.07%로 통계적 유의차는 없었다 (Table 5) (Fig. 17).



Fig. 12. Comparison of density in enamel before and after remineralization

(Group 1).



Fig. 13. Comparison of density in enamel before and after remineralization

(Group 2).



Fig. 14. Comparison of density in enamel before and after remineralization

(Group 3).



Fig. 15. Comparison of density in enamel before and after remineralization

(Group 4).

Table 5. Mineral densit	y change (%) of enam	el after remineralization
-------------------------	----------------------	---------------------------

Group	Group 1	Group 2	Group 3	Group 4	F	Sig.
Mineral density change after remineralization (%)	129.4± 21.39	120.0± 18.25	116.7± 15.30	107.0± 16.07	1.348	0.314

*Fig.16.참조



Fig. 16. Mineral density change of enamel after remineralization $= (1 + b-a/b) \times 100$ (%) (a : demineralized area after demineralization, b : demineralized area after remineralization)



Fig. 17. Mineral density change of enamel after remineralization

IV. 고찰

법랑질 초기 우식과 재광화의 연구를 위한 방법으로는 Moreno 등(1974)이 제안한 acid buffer system 과 Silverstone(1967)이 제안한 acid gel system 등이 있다. Acid gel system 은 실제 자연 치아의 초기 우식과 유사한 형태로 병소가 재현되는 장점이 있는 반면, 오랜 시간이 필요하고 예상치 못한 성분이 포함되어 실험에 영향을 줄 가능성이 있다. Moreno(1974)와 이 (1992)가 사용한 acid buffer system 은 수 일 내에 병소를 진행시킬 수 있고 병소 발생에 연관된 여러 인자들을 독립적으로 관찰할 수 있으며, 포화도 조정을 통해 탈회 진행 속도를 느리게 하여 자연 치아 우식 병소와 유사한 병소를 형성할 수 있다는 장점이 있으므로 이번 실험에서는 이 방법을 이용하여 인공 치아 우식을 형성하였다.

법랑질 초기 우식의 가장 현저한 특징은 비교적 광물의 소실이 적은 건전 표층(surface zone)과 광물의 소실이 주로 일어나는 표층하 탈회부(subsurface lesion)가 관찰된다는 것이다. Moreno 등(1974)은 우식 표면층의 형성을 precipitation - dissolution model로 설명하였는데, 내부에서 용해된 무기질이 농도의 차이에 의해 점차 외부로 확산되는 과정에서 물리 화학적인 기전에 의해 재침착이 일어나기 때문이라고 하였다. 이 설에 의하면 법랑질의 구조는 변하지 않는 안정된 구조가 아니라, 하부에서 유리되는 칼슘, 인 등이 재침착 되면서 유지된다고 하였다. solubility diagram 에서(acidic condition 하) 법랑질 표면에서 약간의 법랑질 용해가 먼저 일어나면서 DCPD, fluoroapatite 등의 침전이 일어난다. 이러한 현상이 법랑질표면에서 법랑질, DCPD, 완충용액 사이에 quasi-equilibrium 상태를 이룰

때까지 계속된다고 했다. 그리고 법랑질 표면에 DCPD의 형성을 야기시킬 수 있는 탈회용액이 표층하 병소 형성에 필수적이라고 하였다. 이에 따르면 lactic acid 의 chemical potential이 내부보다 표면에서 더 크기 때문에 병소의 발생은 표면으로부터 내부 법랑질을 용해시켜 산의 중화가 된다고 하였다. 이때 내부 법랑질에 있는 중성용액은 표층보다 높은 calcium hydroxide potential 을 가지게 되므로 basic constituents (i.e. basic calcium phosphate)의 확산이 내부 법랑질로부터 표층으로 일어나 apatite material 과 DCPD 의 평형을 유지하기 위해 표층 내에 침전하게 된다고 하였다. 이리하여 초기 우식 병소의 표층은 계속적으로 regeneration됨으로 인해 변하지 않는 것으로 보이며 표면으로부터 탈회 용액으로 확산되는 ion transport rate 가 subsurface lesion 형성에 중요 인자로 작용하게 된다고 하였다.

Thylstrup 등(1994)에 의하면 초기 우식 병소를 water imbibition 하에 편광 현미경으로 관찰 시 비교적 intact 한 20~50µm 정도의 건전 표층 (surface zone)과 pore volume 이 5%를 넘는 부위인 표층하 탈회부 (subsurface lesion)을 구분할 수 있다고 하였는데, 이번 실험에서도 탈회된 시편을 편광현미경하에 증류수를 침윤시켜 100 배로 관찰한 결과, 법랑질 초기 우식 병소의 특징인 건전 표층과 표층하 탈회부를 관찰할 수 있었다. 대부분의 시편에서 건전 표층은 비교적 연속적으로 관찰되었고, 정상 법랑질과 유사한 음성 복굴절을 나타내었다. 표층하 탈회부는 황갈색으로 탈회과정에 의하여 형성된 미세 공간에 굴절율이 다른 매개(공기, 물)가 침윤되어 양성 복굴절로 보이고, 중앙부에서 병소 외곽으로 퍼져나가는 양상으로 관찰되었다.

일반적으로 재광화의 진행 양상은 우식 병소 전체 깊이의 감소와 우식 표면층의 계속적인 증가 양상으로 관찰되는데, 이는 우식 병소 전체에 무기질이 침착하여 탈회가 적게 일어났던 병소의 가장자리부터 재광화되는 양상을 보이게 된다. Silverstone(1977)과 ten Cate 등(1982)에 의하면 이런 재광화는 용액 상태의 유리된 칼슘, 인, 불소 이온이 법랑질 내부로 침투하여 법랑질의 탈회를 억제하고 무기질의 침착을 유도하기 때문이라고 한다.

재광화에 대한 pH의 영향에 대해서는 많은 연구가 있었으나 아직 뚜렷한 결론이 나지 않은 상태이다. Featherstone 등(1981)은 재석회화 에 있어 최적의 pH는 무기질의 침착이 가능하며 법랑질의 용해가 일어나지 않는 6-8정도의 pH라고 하였다. Margolis 등(1986)은 1ppm의 불소가 포함된 산성 용액과 중성용액에 노출된 법랑질을 biopsy 한 결과, 산성 용액에 처리시 총 광물질의 손실이 관찰되지 않고 법랑질의 불소함유량이 증가한 데 반해 중성용액 처리시 전혀 불소의 유입이 관찰되지 않음을 보고하였다. 이는 재광화에 있어 산성용액이 중성용액보다 효과가 있음을 의미하는 것이다.

박 등(2000)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 침착 되는 효과를 보기 위함이라고 하였다. 그러나 김 등(1997)의 연구에 의하면 pH 가 5.5에서 다른 pH 보다 더 나은 재광화 양상을 나타냈다고 하였고, 김 등(2007)의 연구에서도 pH 4.3과 5.0에서는 재광화 후에 재탈회가 일어난 반면, pH 5.5 인 경우 재광화시 추가적인 탈회 부위 없이

재광화가 일어났다고 보고하였다. 또한 권 등(2006)에 의하면 재광화 실험에서 pH 6에서는 무기질의 침착이 표층 부위에 국한되어 일어났고, pH 4.3에서는 건전 표층과 병소 심층부에서 무기질 침착이 관찰되었다.

한편 이번 실험에서 10일 이후에는 주로 pH 가 낮은 군에서 표본의 파괴가 일어나 더 이상의 관찰이 불가능하였고, 이에 최종 재광화를 7일째의 사진으로 관찰하였다. 이런 파괴가 일어난 원인은 1군 같이 재광화 용액의 pH 가 너무 낮은 경우 추가적인 탈회가 계속 진행되어 표본이 약화되어 사진 촬영을 위한 조작 시 쉽게 손상되었기 때문인 것으로 추측된다. .

재광화와 포화도의 관계에 대한 연구들을 살펴보면, 박 등(2000)은 포화도가 가장 높은 군(0.390)에서는 무기질의 침착이 표층에 국한되는 경향을 나타내었다고 하였고, 이 등(2009)은 pH4.3인 재광화 용액에 처리 시 포화도가 낮은 군 (0.22)에서는 이온의 침착이 병소 전반적으로 일어났으나, 포화도가 높을수록 건전 표층에서 더 많은 재광화 현상이 일어났고 표층하 병소에서는 재광화 현상이 적게 일어났다고 하였다. 또한 곽 등(2009)도 포화도가 가장 낮았던 군(0.25)에서는 우식 표면층에서 우식 심부까지 전반적으로 재광화가 일어난 반면, 포화도가 높아질수록 우식 표면층의 폭은 증가하였으나 우식 심부에서는 큰 변화를 보이지 않는 양상이 나타났다고 밝힌 바 있다. 이에 이번 연구에서는 degree of saturation을 0.25로 일정하게 하였다.

재광화 연구에 사용되는 실험 평가 방법으로 Aoba 등(1978)은 X-ray diffraction study를 이용하였고, Haikel 은(1983)의 전자 현미경, Featherstone 등(1983)은 시편의

미세 경도를 측정하는 방법을 소개하였다. 이 밖에도 Darling(1956)의 편광현미경을 이용한 관찰, Groeneveld 등(1974)이 사용한 Microradiography와 electron probe microanalysis를 이용한 이온의 정량적 분석 방법 등이 있다.

편광현미경을 이용할 경우 병소의 깊이 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. 따라서 이러한 단점을 보완하고자 이번 실험에서는 편광현미경으로 과찰하 시편을 디지털카메라로 촬영하여 를 측정할 수 density 있는 프로그램(Scion Image analyzer)을 이용하여 상의 density 를 분석하고 표준화하여 촬영 및 현상의 오차를 보상한 후 그래프에서 나타나는 면적을 계산하여 재광화 정도를 비교하였다. 최근에는 컴퓨터와 디지털 카메라 등의 성능 개선으로 비교적 만족스러운 image를 얻을 수 있었으나 애초에 찍은 사진의 밝기가 항상 같은 것은 아니어서 정상 치아부의 density 를 표준화하는 과정에서 다소의 어려움이 있었다. 더 정확한 비교를 위해서는 매번 사진을 찍을 때 위치 및 밝기를 최대한 표준화하는 것이 필요할 것으로 생각된다.

이번 실험에서 편광현미경 관찰 시 실험군 모두에서 재광화 후 탈회 깊이가 증가하였는데, pH 가 감소함에 따라 탈회 깊이의 증가가 두드러졌다. pH 에 따른 전체 탈회 깊이 변화율은 1군 131.7±24.8%, 2군 112.4±15.2%, 3군 111.0±23.7%, 4군 104.0±15.3%로 pH 가 증가함에 따라 전체 탈회 깊이의 변화율이 감소하는 양상을 보였으나 통계적 유의차는 없었다 (Table 3). 건전 표층 폭의 변화율은 1군 132.2±7.8%, 2군 127.2±15.2%, 3군 124.2±19.2%, 4군 117.4±24.5로 통계적

유의차는 없었지만 pH가 감소함에 따라 건전표층 폭의 변화율이 증가하는 양상을 관찰할 수 있었다 (Table 4). 이는 권 등(2006)의 실험결과와 비슷하게 나타난 것으로 pH 가 증가함에 따라 표층에 가까운 쪽에 무기질이 침착 되는 양상을 보인 것과 일치하는 결과이다.

본 실험에서 재광화 후 density 분석결과 모든 군에서 탈회시편에 비해 전체적인 무기질 양의 증가를 보였다. 각 군간의 재광화 용액 처리 후에 통계적 유의차는 없었지만 pH 가 가장 낮았던 1군에서 가장 많은 무기질의 증가를 보였다 (Table 5). 이 실험 결과에서 주목할 만한 사항은 pH 증가할수록 건전 표층에 국한된 재광화 경향이 나타난다는 점이다. pH 가 가장 낮은 1군에서는 재광화 양상이 탈회부위에 전반적으로 보이는 반면, pH 가 높은 4군에서는 표층부에 국한된 재광화 양상을 보였다. 이는 pH 가 증가할수록 표층에 무기물 침착이 많아져 심부의 재광화를 위한 이온 이동을 방해하기 때문인 것으로 판단된다.

실험에서 표본간의 오차를 줄이기 위해 수집한 여러 치아에서 나온 시편들을 4개의 실험군에 최대한 고루 분포하도록 노력하였다. 하지만 동일한 실험조건하에서 형성된 인공치아 우식이라 할지라도 치아에 따라 혹은 같은 치아 내에서도 부위에 따라 약간씩 차이가 나타나기도 하는데 이러한 현상은 치령, 구강 내 존재 시 환경의 차이, 식이 습관, 불소도포, 법랑질조성의 차이 때문인 것으로 판단된다. 따라서 표본간의 변이를 줄이는 작업이 필요한데 이를 위해서는 곽 등(2009)과 이 등(2009)이 주장한 바와 같이 실험치아의 수거 시 연령, 상수도 불소화 지역 여부, dental history (불소도포 유무), 치아 (전치, 소구치, 구치) 등에 따라 분류, 수집하여 비교 분석하는 것이 필요하고, 가능하면 동일한 피검자의

치아를 이용하거나 single section technique 등을 이용하여 비교, 평가하는 작업이 필요하리라 사료된다.

이번 실험에서는 포화도를 일정하게 하고 재광화 용액의 pH 만 변화시켰지만, 심부까지 재광화를 일으킬 수 있는 pH, 용액의 농도, 불소의 농도, 포화도의 적절한 조합을 찾아내기 위해 앞으로도 많은 연구가 필요할 것으로 판단된다.

V. 결론

이번 연구에서는 유산 완충 탈회 용액을 이용하여 법랑질을 탈회시키고, 유산의 pH 를 4.3, 5.0, 5.5, 6.0으로 달리한 4가지 재광화 용액에 7일간 처리하여 나타나는 변화를 편광현미경으로 관찰하여 탈회 깊이와 건전 표충 폭의 변화를 측정하였다. 또한 Image program(Scion Image analyzer)을 이용하여 탈회와 재광화 후 촬영하여 얻은 상으로부터 lesion 부위의 평균 density를 비교하여 무기질의 변화량 측정을 통해 인공 탈회된 법랑질의 동력학적 변화를 관찰하였다.

- pH 가 낮은 1, 2군에서는 건전 표충부터 표충하 탈회부까지 전반적인 재광화 경향이 관찰되었으나, 동시에 전체적인 탈회 깊이도 증가하는 경향을 보였다.
- pH 가 높은 4군에서는 재광화 양상이 표층부에만 국한되는 경향을 보였고, 전체 탈회 깊이에는 변화가 없었다.

3. pH가 낮을수록 재광화가 더 많이 일어나는 경향을 보였다.

본 실험에 의하면 포화도가 일정(0.25)한 pH 4.3, 5.0, 5.5, 6.0 의 재광화 용액에서도 탈회 현상과 재광화 현상이 동시에 일어나는데, pH 가 낮을수록 표면층에서부터 병소의 심부까지 전반적인 재광화 양상을 보이고, pH가 높을수록 표면층에서 더 많은 재광화가 일어났으나, 병소의 심부 쪽에는 재광화 현상이 적게 일어나는 경향성을 보였다. pH가 낮을수록 재광화가 더 많이 일어나는 경향을 보였으나 통계학적 유의차는 없었다.

참고 문헌

곽영준, 김의성, 이찬영 : pH 5.5에서 재광화 용액의 포화도 변화가 인공 탈회된 법랑질의 재광화에 미치는 영향. 대한치과보존학회지 33: 481-92, 2009

권중원, 이찬영 : 유산 완충 용액의 유산농도와 pH 가 법랑질의 재광화에 미치는 영향. 연세대학교 대학원 치의학과, 박사학위논문, 2006.

김민경, 금기연, 이찬영 : 법랑질 인공 우식의 재광화에 미치는 pH 의 영향에 관한 연구. 대한치과보존학회지 22: 193-208, 1997.

김성철, 이찬영 : 재광화 완충 용액의 pH 변화가 상아질의 재광화에 미치는 영향. 대한치과보존학회지 32:151-161,2007

박정원, 허복, 이찬영 : 유기산 완충 용액의 포화도가 법랑질 및 상아질의 재광화에 미치는 영향과 수산화인회석의 AFM 관찰. 대한치과보존학회지 25: 459-473,2000.

이지숙, 노병덕, 이찬영 : pH 4.3에서 재광화 용액의 포화도에 따른 인공 탈회된 법 랑질의 동력학적 변화. 대한치과보존학회지 34: 20-9, 2009

이찬영 : 산완충용액을 이용한 인공치아우식형성. 연세치대논문집 7:34-41,1992

Amjad Z, Nancollas GH : Effect of fluoride on the growth of hydroxyapatite and human dental enamel. Caries Res 13: 250-258, 1979

Anderson : Clinical study of arresting dental caries. J Dent Res 17: 443-452, 1938

Aoba T, Okazaki M, Takahashi J, Moriwaki Y : X-ray diffraction study on remineralization using synthetic hydroxyapatite pellets. Caries Res 12: 223-30, 1978

Darling AI : Studies of the early lesion of enamel caries with transmitted light, polarized light and radiography. Brit Dent J 6: 289-341, 1956

Dirks OB : Posteruptive changes in dental enamel. J Dent Res 45: 503-511, 1966

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 JD, Mellberg JR : Relative rates of progress of artificial carious lesions in bovine, ovine and human enamel. Caries Res 15: 109-14, 1981

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.

Featherstone JD, Rodgers BE, Smith MW : Physicochemical requirements for rapid remineralization of early carious lesions. Caries Res 15: 221-35, 1981

Featherstone JD, ten Cate JM, Shariati M, Arends J : Comparison of artificial caries-like lesions by quantitative microradiography and microhardness profiles. Caries Res 17: 385-91, 1983

Groeneveld A, Jongebloed W, Arends J : The mineral content of decalcified surface enamel. A combined microprobe- quantitative microradiography study. Caries Res 8: 267-74, 1974

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

Head : 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

Lammers PC, Borggreven JMPM, Driessens FCM : Influence of fluoride on in vitro remineralization of artificial subsurface lesions determined with a sandwich technique. Caries Res 24:81, 1991

Margolis HC, Moreno EC, Murphy BJ : Effect of low levels of fluoride in solution on enamel demineralization. J Dent Res 65: 23-29, 1986.

Moreno EC, Zahradnik RT : Chemistry of enamel subsurface demineralization in vitro. J Dent Res 53: 226-235, 1974.

Silverstone LM : Observation on the dark zone in early enamel caries and artificial like lesions. Caries Res 1: 267-274, 1967.

Silverstone LM, Wefer JS, Zimmerman BF, Clark BH, Featherstone MJ : Remineralization phenomena. Caries Res 11: 59-84, 1977.

Ten Cate JM, Arends J : Remineralization of artificial enamel lesions in vitro. IV. Influence of fluorides and diphosphonates on short- and long-term reimineralization. Caries Res 15: 60-9, 1981

Ten Cate JM, Duijsters PPE : Alternating demineralization and remineralization of artificial enamel lesions. Caries Res 16: 201-210, 1982.

Thylstrup A, Fejerskov O: Textbook of Clinical Cariology, 2nd edition, Munksgaard, 1994

Abstract

THE INFLUENCE OF DIFFERENT pH ON REMINERALIZATION OF ARTIFICIALLY DEMINERALIZED ENAMEL

Keun young Yoon, D.D.S.

Department of Dentistry, the Graduate School, Yonsei University

(Directed by Professor Chanyoung Lee, D.D.S., M.S.D., D.D.SC.)

There is considerable evidence that remineralization and demineralization occur simultaneously in enamel caries. Many experiments have been carried out to determine the optimal conditions for remineralization of incipient dental caries to occur. It was shown that the remineralization process is affected by the pH, lactic acid concentration, degree of saturation, chemical composition of the enamel, and fluoride concentration and etc. Thus, this study observed the remineralization aspect of the enamel by changing the pH of the organic acid (4.3, 5.0, 5.5, 6.0) while keeping the organic acid concentration and the degree of saturation constant.

In this study, artificially demineralized enamel was treated with remineralization solution of different pH (4.3, 5.0, 5.5, 6.0) with the same degree of saturation for 7 days. Then using a polarizing microscope, changes in the demineralization depth and the surface lesion width were measured. The changes in mineral density were also compared and analyzed using a computer program.

- 1. In groups 1, 2, with the lower pH, remineralization tended to occur thoroughly from the surface to the subsurface lesion, and the total demineralization depth also showed a tendency to increase.
- 2. In group 4, with the highest pH, remineralization tended to occur mainly in the surface lesion, and there was no change in the total demineralization depth.
- 3. As the pH decreased, a greater degree of remineralization tended to occur.

In conclusion, in remineralization solutions of different pH (4.3, 5.0, 5.5, 6.0) with the same degree of saturation, demineralization and remineralization occurred simultaneously. As the pH decreased, mineralization tended to occur thoroughly from the surface to the subsurface lesion. As the pH increased, remineralization tended to occur mainly in the surface lesion, but minimally in the deep subsurface lesion. Although there was no statistical difference, as the pH decreased, a greater degree of remineralization tended to occur

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