

## 불소양치용액이 소아 치은 섬유아세포의 세포활성에 미치는 영향에 관한 연구

원광대학교 치과대학 소아치과학교실

이동현 · 이광희

Abstract

### EFFECTS OF FLUORIDE MOUTHRINSE ON CELL ACTIVITY OF GINGIVAL FIBROBLASTS OF CHILDREN

Dong-Hyun Lee, D.D.S., Kwang-Hee Lee, D.D.S., M.S.D., Ph. D.

*Department of Pediatric Dentistry, College of Dentistry, Wonkwang University*

The use of fluoride is one of the most effective methods for caries prevention.

Fluoridation of public water supply has been recognized, for many years, as an effective way to reduce dental caries. The fluoride supplement has been recommended when the natural fluoride was unavailable or below the optimal range. However the mechanism of caries prevention by fluoride has not yet been clarified and it is well known that an overdose of fluoride results in acute and chronic toxicity, especially dental fluorosis. Fluoride mouthrinsing solution is widely used in dentistry due to its effectiveness in carrying anticariogenic action. Understanding the effects of fluoride mouthrinsing solution on human gingival fibroblasts will provide the safety rationale for its use during the caries preventive therapy.

The purpose of this study was to evaluate the cytotoxic effect of fluoride mouthrinsing solution on the human gingival fibroblast in vitro. The human gingival fibroblasts were cultured from healthy gingiva on the extracted deciduous teeth of children.

Cells were inoculated into a 24-well plate with  $1 \times 10^4$  cells/well of medium at  $37^\circ\text{C}$ , 100% humidity, 5%  $\text{CO}_2$  incubator for 24 hours. And the cells were counted by using the hemocytometer at each designed study. Human gingival fibroblasts were cultured in growth medium after one minute application range of 0.02% - 0.2% NaF solution and 0.1%  $\text{SnF}_2$  solution. The cells used in this study were between fifth to eighth passage number. The cell morpho-

logy was examined by inverted microscope and cell proliferation was measured by incorporating [ $^3\text{H}$ ]-thymidine into DNA. DNA synthesis by human gingival fibroblasts was assessed by [ $^3\text{H}$ ]-thymidine uptake assays while the cell activity was measured by MTT assay.

Each concentrated fluoride mouthrinsing solution was estimated for its biocompatibility with fibroblasts by the tissue culture technique.

The results of this study were as follows :

1. It was observed that at 0.05% , 0.2% NaF mouthrinsing solution the cytoplasmic processes became globular. When 0.1% SnF<sub>2</sub> mouthrinsing solution was applied, the cytoplasmic process and cell morphology were disappeared.
2. DNA synthetic activity was reduced regardless of the concentration of the fluoride mouthrinsing solution. However, the result is statistically insignificant except 0.1% SnF<sub>2</sub> mouthrinsing solution( $p < 0.05$ ).
3. Our results indicate that 0.02% , 0.05% concentrations of NaF mouthrinsing solution caused minimal cytotoxicity. But 0.2% NaF and 0.1% SnF<sub>2</sub> concentration were a significant difference between the cell activity in the experimental group and control group ( $p < 0.05$ ).
4. After applying 0.05% & 0.02% NaF fluoride mouthrinsing solution, cell activity was restored to the control groups level according to incubating time.

The results suggest that direct exposure to fluoride solution inhibits gingival fibroblast activity. Therefore, for the most effective use of fluoride use, lowering the concentration of fluoride mouthrinsing is advisable because it maintains biocompatibility and free ion in the oral fluid.

## I. 서 론

경제 및 문화의 발달과 식생활의 변화에 따라 치아우식증 이환율이 증가하고 있다. 치아우식증은 병원체요인인 치태대의 치아우식증을 유발할 수 있는 모든 미생물, 숙주요인인 치아의 감수성과 타액의 유출량 및 항균작용, 환경요인인 구강환경과 식이 등의 세 요인에 의해 발생하는 일련의 화학세균 과정에 의한 치질의 파괴현상으로서 치질중에 무기질이 탈회되고 유기질이 파괴되어 치아조직의 결손을 초래하는 치과조직 질환으로서 만성 세균성질환이자 범발성 질환이다. 이러한 치아우식증을 예방하기 위한 노력이 계속되어 왔는데, 불소와 치아우식증과의 관계에 대하여 그 동안 많은 학자들의

관찰과 연구로 예방기전, 사용법, 효과 등이 밝혀져 불소는 구강보건 분야의 최대관심사가 되어왔다<sup>1-5)</sup>. 탈회에 대한 치아구조의 저항성 증가, 재광화과정의 촉진, 치태세균막의 우식 유발능의 감소 등이 일반적인 불소의 작용으로 받아들여지고 있다<sup>4,6)</sup>. 이러한 불소에 의한 항우식작용은 저농도 불소를 자주 사용하는 것이 우식감소와 예방에 가장 효과적이라고 알려져 있으며, 불소의 공급량, 공급방법보다 공급횟수와 규칙적인 반복사용에 좌우된다<sup>7,35)</sup>. 불소를 이용한 치아우식 예방법으로는 음료수 불화, 불소보충제복용, 불소용액양치, 불소국소도포, 불소세치제 등이 일반적으로 사용되고 있다<sup>1-3)</sup>.

음료수 불화인 도시상수도불화법이 가장 먼저 개발된 안전하고 효과적인 치아우식예방법으로

알려지고 있으며<sup>8)</sup>, 음료수 불화가 되지 않은 지역에서는 불소용액양치법이 권장되며 20-50% 치아우식예방효과를 가지며 간편하고 저농도의 불소를 반복 적용할 수 있는 방법이다<sup>9-14)</sup>. 불소용액양치에는 일반적으로 두 가지 농도의 불소용액이 사용되는데 0.2% 불화나트륨(NaF)은 일주일에 한번 양치할 경우에 사용하고, 0.05% 불화나트륨은 매일 한번씩 양치할 경우에 사용한다. 그밖에 0.02% 불화나트륨은 하루에 두 번, 0.1% 불화석(SnF<sub>2</sub>)은 하루에 한번 양치하는 방법으로 사용되고 있다<sup>1-3, 15)</sup>.

예방목적으로 사용하는 불소의 약리작용은 농도에 따라 치아와 골조직에의 작용을 제외하고는 독소로 작용하며, 효소작용을 억제하고 조직호흡과 혐기성 당 분해작용을 감소시키며 체외에서 유용한 항응고제이고 적혈구에서 당 분해작용과 같은 생체 활동을 중단시킨다고 보고되어 있다<sup>16)</sup>.

세포단위를 이용한 인체적합성을 검사하는 방법중 색의 차이를 이용하는 MTT colorimeter assay는 세포생존과 증식 측정을 위해 개발되었다. 이 assay를 뒷받침하는 원리는 MTT에 있는 tetrazolium 환이 활성화된 mitochondria에 존재하는 dehydrogenase에 의해 분해되어 비용해성의 짙은색 MTT formazan product를 형성하게 된다. MTT는 색의 변화정도를 ELISA reader를 이용하여 감지시켜 흡광도를 측정하여 세포의 수나 활성도를 알 수 있는 방법으로 치과영역의 여러 재료의 독성을 평가하는데 많이 사용되고 있다<sup>17-20)</sup>. 불소양치용액과 직접 접촉하는 소아의 치은 조직으로부터 세포배양법에 가장 많이 사용되는 섬유아세포(비교적 배양이 용이하고 외부자극에 대해 세포분열을 하고 결체조직의 기질합성을 하며 조직의 흡수속도 등을 변화시키는 성질을 갖고 있는 섬유아세포)를 배양하여 불소양치 용액인 0.2%, 0.05%, 0.02% NaF와 0.1% SnF<sub>2</sub>를 구내 양치시간인 1분 적용후 1, 2, 3일간 배양하여 세포형태의 변화, DNA 합성에 미치는 영향의 평가와 MTT assay와 ELISA reader를 이용한 세포활성도를 측정하였다.

불소양치용액은 1ppm인 도시상수도수불화

보다는 고농도이다. 이런 고농도 불소양치용액의 사용빈도와 인식이 높아지고 있으며 불소의 항우식효과와 구강내 미생물에 대한 효과는 널리 알려져 있다. 이에 본 연구는 불소양치용액의 안전성을 검증하는 의미에서 불소양치용액이 접촉하는 어린이의 치은 섬유아세포에 대한 영향을 세포단위를 이용한 인체적합성을 검사하는 것이다.

## II. 연구재료 및 방법

### 1. 연구재료

#### 1) 치은 섬유아세포의 배양

임상 및 방사선 사진상으로 치은 염증이 없고 교환시기의 건전한 유치를 발치하며 치은을 절제하였다. 발거한 치아와 치은을 HBSS(H 6136, Hank's Balance Salt Solution., Gibco Co., USA)가 담겨있는 15ml tube에 넣어 3회 세척하여 잔존 혈액을 제거하였다. 절제한 치은은 10% 우태아혈청(FBS, Fetal Bovine Serum, Gibco Co., USA)과 10% 항생제(Penicillin G 10000µg/ml, streptomycin 25µg/ml, amphotericin B 포함, Gibco Co., USA)가 1% 농도로 포함된 -MEM(minimal Essential Medium, Gibco co., USA)으로 3회 세척하였다. 치은조직을 세척한 후 치경부에 붙어있는 치은조직을 건조되지 않도록 주의하면서 약 1mm<sup>2</sup>로 세절하여 60mm 세포배양용 접시(Nunc Co., USA)에 5-6조각을 위치시켰다. 세절한 치은조직은 조직의 가장자리가 배양접시에 잘 부착되도록 주의하면서 잘 퍼놓은 후 pipette을 이용하여 각 배양접시당 2ml의 배양액을 주입하여 20분간 37°C, 5% CO<sub>2</sub>, 습도 100% 배양기(Bantex 1820IR, SHEL - LAB, USA)에서 배양접시에 고르게 부착되도록 배양시킨 후, 각 배양접시당 3ml의 10% 우태아혈청과 1% 항생제를 첨가한 -MEM을 가하고 단일 세포층이 형성될 때까지 3일 간격으로 배양액을 교환하였다.

3일간 배양 후 배양접시내에 배양액을 제거하고 Hank's Balance Salt Solution(HBSS, Gi-

bco Co., USA)으로 2회 세척하여 부착되지 않은 세포를 제거하였다. 부착된 세포의 분리를 위해 HBSS를 제거한 후 0.25% trypsin/EDTA(10X, Gibco., USA)를 배양접시당 2ml씩 넣고, 3분간 clean bench상에 방치한 후 배양접시에 부착된 세포를 분리시키고 피펫을 이용하여 15ml 원심분리용 시험관으로 옮겨서 1,200rpm으로 10분간 원침하였다. 원침후 상층액을 제거하고 HBSS를 가하여 세척후 Vortex mixer로 혼합 세척하고 다시 1200rpm으로 10분간 원침하였다. 다시 상층액을 제거하고  $\alpha$ -MEM을 첨가하여 Vortex mixer로 혼합하여 세포부유액을 만들어 60mm 배양접시에 분주하였다. 배양액은 세포의 충분한 증식이 명확히 나타날 때까지 2-3일 간격으로 교환하였고, 분주 비율은 1:3 내지 1:4로하고 5회 계대배양된 치은 섬유아 세포를 본 실험에 이용하였다.

## 2) 불소양치용액 준비

불화나트륨(NaF), 불화석(SnF<sub>2</sub>) powder를 전자저울로 계측하고, 생리식염수를 이용하여 2%, 0.5%, 0.2% NaF와 1% SnF<sub>2</sub>의 농도로 10배의 stock solution을 만들어 실험에 이용하였다. 생리식염수로 희석하는 과정에 향료나 색소, 알코올 등의 성분은 첨가하지 않았다. 희석된 불소양치용액은 폴리에틸렌 용기에 보관하였으며, 불화석은 실험 직전에 희석하여 빛에 노출되지 않도록 알루미늄박으로 포장하였다. 희석된 불소양치용액은 실험직전에 filtration하여 사용하였다. 섬유아세포에 적용 시에는 배지와 혼합하여 각각의 농도가 0.2%, 0.05%, 0.02% NaF와 0.1% SnF<sub>2</sub>가 되도록 하였다.

## 2. 연구방법

### 1) 도립현미경을 이용한 세포형태의 관찰

각 실험에 앞서 24-well plate에 세포수가  $5 \times 10^3$ 개가 되도록 분주하기 위해, trypan - blue로 염색한 후 hemocytometer에 옮겨 도립현미경 상에서 세포 수를 세어서 부착이 되도록 분주하고 1일간 배양을 실시하였다. 대조군에 생

리식염수, 실험군으로 0.2%, 0.05%, 0.02% NaF와 0.1% SnF<sub>2</sub>농도를 각 well에 1분간 가한 후 HBSS로 2회 세척한 후 배양액을 가하여 3일간 배양하였다.

배양후 이를 각 약물의 농도별로 분류한 다음 도립현미경(IMT2-21, Olympus, Japan)을 이용하여 세포의 형태를 관찰하였다.

### 2) DNA 합성에 미치는 영향

치은 섬유아세포는 24-well plate에 세포수가  $5 \times 10^3$ 개가 되도록 분주하고 부착을 위해 1일간 배양하였다. 배양후 실험군에는 0.2%, 0.05%, 0.02% NaF와 0.1% SnF<sub>2</sub>를, 대조군에는 생리식염수를 각 well에 1분 가한 후 HBSS로 2회 세척한 후 배양액을 가하여 형태변화를 보이는 24시간후와 형태회복을 보이는 72시간까지 배양한다. 배양시간 마지막 2시간 전에 배지를 제거하고 5 $\mu$ Ci/ml의 [<sup>3</sup>H]-thymidine(Amersham, Australia Pty Ltd., Australia)이 첨가된 배지를 가하여 2시간 더 배양하였다. 배양후 배양액은 조심스럽게 버려지고 cold PBS(Phosphate Buffered Solution)로 3회 세척한 후 cold 5% TCA(Trichloroacetic acid)로 2회 세척한다. 2회째 세척시 TCA첨가후 세포를 고정하기 위해 10분간 경과후 제거한다. 세척된 섬유아세포는 0.1% NaOH/ 0.1% SDS를 500 $\mu$ l 첨가하여 scintillation vial에 담아서 방사선 활성도를 liquid scintillation counter(LS 5000, Beckman, USA)를 이용하여 평가하였다.

실험은 각 군마다 4배수로 시행하였으며, 매 실험마다 모든 실험 결과는 대조군의 백분율로 산출하였다.

### 3) 세포활성도 검사

5-8회 계대배양된 치은 섬유아세포를 0.25% trypsin/EDTA로 떼어내어 trypan blue로 염색 후 hemocytometer로 세포 수를 세어 24-well plate의 각 well 당  $1 \times 10^4$ 의 세포가 위치되도록 분주하고 세포들이 부착할 수 있도록 1일간 37 $^{\circ}$ C, 5% CO<sub>2</sub>, 100% 습도의 배양기에서 배양하였다. 배양후 실험군에는 0.2%, 0.05%, 0.02% NaF와 0.1% SnF<sub>2</sub>를, 대조군에는 생리식염

수를 각 well에 1분 가한 후 HBSS로 2회 세척한 후 배양액을 가하여 24, 48, 72시간 배양후 부착되지 않은 세포를 제거하기 위해 배지를 제거하고 새로운  $\alpha$ -MEM 1ml을 각각의 well에 첨가하였다. 이어서 24-well plate의 바닥에 부착되어 있는 양을 알아보기 위해 생리식염수로 용해한 MTT(3-(4,5-dimethylthiazol-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide; No. M2128, Sigma Co., USA)를 첨가하여 형성된 formazan 결정을 용해시킨 후 96 well plate 상으로 옮겼다. Plate를 잘 흔든 후 ELISA analysis로 흡광도를 측정하였다. 실험은 각 군마다 4배수로 시행하였으며, 매 실험마다 모든 실험 결과는 다음과 같은 대조군의 백분율을 산출하였다.

\*세포활성도(%) =

$$\frac{\text{실험군 well의 흡광도}}{\text{대조군 well의 흡광도}} \times 100$$

#### 4) 통계분석

각 농도와 배양시간에 따른 DNA합성, 세포활성도의 평균과 표준편차를 구하고 이들의 통계학적 유의성은 일원분산분석법(ANOVA)과 Duncan's multiple range test를 이용하여 통계 분석하였다.

### III. 연구성적

#### 1. 독립현미경을 이용한 세포형태 관찰

배양 1일째 치은 섬유아세포의 형태를 독립현미경으로 관찰한 결과 0.02% NaF 농도의 양치용액을 가한 군은 대조군처럼 정상적인 방추형의 세포형태 및 세포돌기를 보였고, 0.05% NaF 농도의 양치용액과 0.2% NaF 농도의 양치용액을 가한 군에서는 대조군에 비해 둥글어진 형태와 부분적인 세포돌기의 소실을 보였다.

배양 3일째에는 0.02%, 0.05% NaF 농도의 양치용액에서 정상적인 형태와 세포돌기를 보였으며, 0.2% NaF 농도의 양치용액을 가한 군은 세포돌기들의 부분적인 소실을 보였다.

0.1% SnF<sub>2</sub> 농도의 양치용액을 가한 군에서는 배양시간에 관계없이 둥근 형태와 세포돌기의 소실을 보였다.

#### 2. DNA 합성에 미치는 영향

대조군에 비해 0.02%, 0.05% 농도의 NaF 양치용액 적용군은 DNA 합성의 감소를 보이지만 통계학적으로 유의하지는 않았고( $p > 0.05$ ), 0.2% 농도의 NaF 양치용액을 가한 군에서는 DNA 합성의 증가를 보이지만 유의하지는 않았다( $p > 0.05$ ) (Table 1).

0.1% 농도의 SnF<sub>2</sub> 양치용액을 가한 군에서 대조군과 NaF 양치용액을 가한 군에 비해 통계학적으로 유의한 수준의 DNA 합성의 감소를

Table 1. Effects of fluoride mouthrinsing solution for one minute application on DNA Synthesis of cultured human gingival fibroblast (Mean %  $\pm$  S.D.) (n=4)

Group \ Day	1st Day	3rd Day
Control	100.00 $\pm$ 13.69	100.00 $\pm$ 10.34
0.02% NaF	90.99 $\pm$ 3.91	92.33 $\pm$ 7.74
0.05% NaF	88.66 $\pm$ 13.77	97.58 $\pm$ 12.88
0.2% NaF	107.61 $\pm$ 23.52	91.11 $\pm$ 12.51
0.1% SnF <sub>2</sub>	55.22 $\pm$ 4.57*	34.10 $\pm$ 4.92*

\* : Significantly different from control( $p < 0.05$ )

보였다( $p < 0.05$ ).

0.02%, 0.05% 농도의 NaF 양치용액을 가한 군에 배양 1일째보다 배양 3일째에 DNA 합성이 증가되는 경향을 보였으나 0.2% 농도의 NaF 양치용액을 가한 군은 배양 3일째에 DNA 합성이 감소되었다. 0.1% 농도의 SnF<sub>2</sub> 양치용액을 가한 군은 배양 1일째에 DNA 합성이 감소되었다. 배양 3일째에는 0.1% 농도의 SnF<sub>2</sub> 양치용액만이 대조군에 비해 유의한 수준의 DNA 합성 감소를 보였다( $p < 0.05$ ).

비슷한 불소농도인 0.05% NaF와 0.1% SnF<sub>2</sub> 양치용액을 비교하면, 배양 1일째 DNA 합성은  $88.66 \pm 13.69$ 과  $55.22 \pm 4.57$ 로 0.1% SnF<sub>2</sub> 양치용액이 유의하게 낮았으며, 배양 3일째에는  $97.58 \pm 12.88$ 과  $34.10 \pm 4.92$ 로 0.1% SnF<sub>2</sub> 양치용액이 유의하게 낮았다(Fig. 1).

### 3. MTT assay

배양 1일째에 0.02% 농도의 NaF 양치용액을 가한 경우는 대조군에 비해 세포활성도가 감소하였지만 통계학적으로 유의한 수준은 아니었으나( $p > 0.05$ ), 0.05%, 0.2% 농도의 NaF 양치용액을 가한 군에서는 대조군에 비해 유의한 수준의 세포활성도 감소를 보였다(Table 2).

각 농도의 NaF 양치용액을 가한 경우 배양 2일째 세포활성도가 감소했지만, 배양 3일째에 0.2% 농도의 NaF 양치용액을 제외하고는 대조군 수준의 세포활성도의 회복을 보였다. 배양 3일째에 NaF 양치용액을 가한 군은 대조군에 비해 낮지만 세포활성도의 회복을 보이거나 0.2% 농도의 NaF 양치용액은 여전히 대조군에 비해

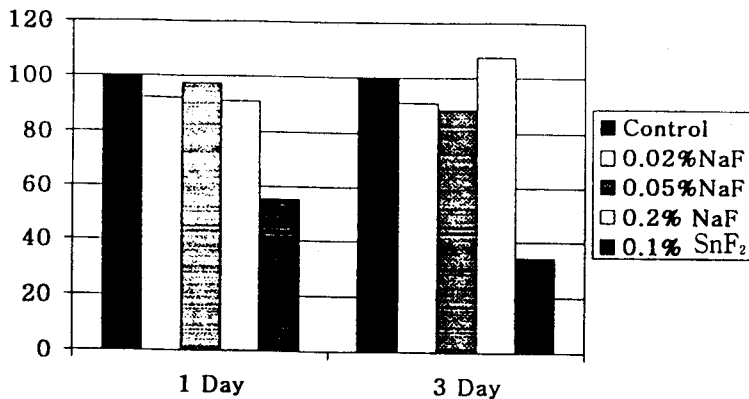


Fig.1 Effects of fluoride mouthrinsing solution for one minute application on DNA Synthesis of cultured human gingival fibroblast

Table 2. Effects of fluoride mouthrinsing solution for one minute application on cell activities of cultured human gingival fibroblast (Mean% ± S.D.) (n=4)

Group \ Day	1st Day	2rd Day	3rd Day
Control	100.00 ± 1.57	100.00 ± 5.37	100.00 ± 1.16
0.02% NaF	95.07 ± 3.23	89.06 ± 13.58	84.36 ± 11.46
0.05% NaF	83.10 ± 7.59*	68.91 ± 6.97*	90.09 ± 3.14
0.2% NaF	79.80 ± 11.06*	56.64 ± 5.21*	67.48 ± 10.45*
0.1% SnF <sub>2</sub>	14.10 ± 1.48**	7.85 ± 8.83**	3.37 ± 0.21**

\* : Significantly different from control( $p < 0.05$ )

\*\* : Significantly different from NaF mouthrinsing solution( $p < 0.05$ )

유의하게 낮은 세포활성도를 나타내었다( $p < 0.05$ ).

0.1% 농도의 SnF<sub>2</sub> 양치용액은 대조군과 NaF 양치용액에 비해 배양기간에 관계없이 유의한 수준의 낮은 세포활성도를 보였고( $p < 0.05$ ), 배양기간에 따라 세포활성도가 낮았다. 즉 배양기간에 따라 세포활성의 회복을 보이지 않았다(Fig.2).

비슷한 불소농도인 0.05% NaF 양치용액과 0.1% SnF<sub>2</sub> 양치용액을 비교하면, 배양 1일째 세포활성도는  $83.10 \pm 7.59$ 대  $14.10 \pm 1.48$ 로 0.1% SnF<sub>2</sub> 양치용액의 세포활성도가 유의하게 낮았으며( $p < 0.05$ ), 배양 3일째에는  $90.09 \pm 3.14$ 대  $3.37 \pm 0.21$ 로 여전히 0.1% SnF<sub>2</sub> 양치용액이 유의한 세포활성도 감소를 보였다( $p < 0.05$ )(Fig.3).

05)(Fig.3).

비슷한 불소를 함유한 0.05% NaF(225 ppm Fluoride)와 0.1% SnF<sub>2</sub>(243 ppm Fluoride)를 비교하면(table 3), 세포의 형태는 0.05% NaF군은 배양 1일째 형태가 둥글어졌으나 배양 3일째에는 정상적인 방추형 형태와 세포돌기를 보인 반면에 0.1% SnF<sub>2</sub>군은 세포돌기가 소실되고 둥근 형태를 보이며 배양 3일째에도 세포형태의 회복을 보이지 않았다. 불소용액의 DNA합성에 대한 영향을 살펴보면 0.05% NaF군은 배양 1일째  $88.66 \pm 13.77$ , 배양 3일째  $97.58 \pm 12.88$ 로 배양시간에 따라 세포증식이 일어나 대조군 수준의 DNA합성도를 보였다. 0.1% SnF<sub>2</sub>는 배양기간에 따라  $52.22 \pm 4.75$ (배양 1일),  $34.10 \pm 4.92$ (배양 3일)로 대조군에

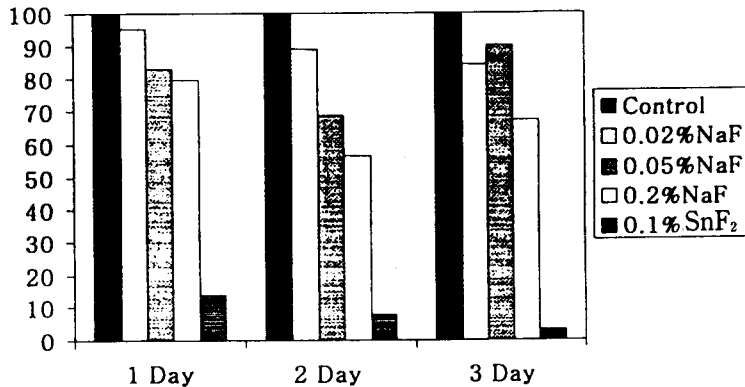


Fig. 2. Effects of fluoride mouthrinsing solution for one minute application on cell activities of cultured human gingival fibroblast

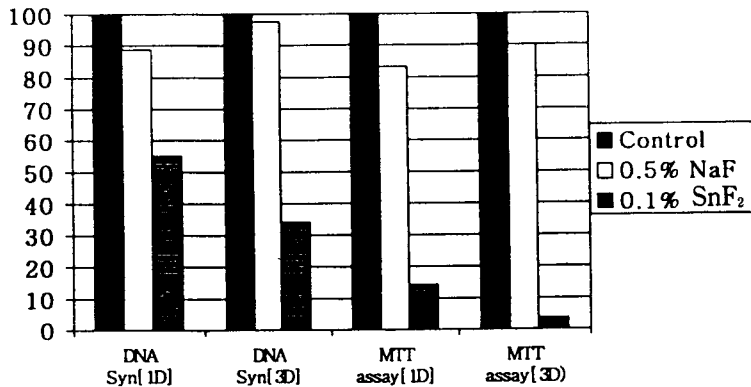


Fig. 3. Comparison of 0.05% NaF with 0.1% SnF<sub>2</sub> Mouthrinsing solution

Table 3. Comparison of 0.05% NaF with 0.1% SnF<sub>2</sub> Mouthrinsing solution

Concent Item	Control	0.05% NaF	0.1% SnF <sub>2</sub>
세포형태 (배양1일)	정상적인 방추형 형태 및 세포돌기	약간 둥글어진 형태 및 정상적인 세포돌기	둥근 형태 및 세포돌기의 소실
세포형태 (배양3일)	정상적인 방추형 형태 및 세포돌기	정상적인 방추형 형태 및 세포돌기	둥근 형태 및 세포돌기의 소실
DNA합성 (배양1일)	100.00 ± 13.69	88.66 ± 13.77	55.22 ± 4.57
DNA합성 (배양3일)	100.00 ± 10.34	97.58 ± 12.88	34.10 ± 4.92
MTT assay (배양1일)	100.00 ± 1.57	83.10 ± 7.59	14.10 ± 1.48
MTT assay (배양3일)	100.00 ± 1.16	90.09 ± 3.14	3.37 ± 0.21

비해 유의한 감소를 보였으며 세포증식이 이루어지지 않았다. MTT assay를 이용한 세포활성도 평가에서 배양 1일째에는 83.10±7.59, 배양 3일째에는 90.09±3.14로 대조군에 비해 낮은 활성도를 보이지만 배양기간에 따라 세포활성도의 회복을 보이고, 0.1% SnF<sub>2</sub>군은 배양 1일째 14.10±4.48, 배양 3일째에는 3.37±0.21로 배양기간에 관계없이 유의한 수준의 세포활성도 감소를 보였다(p<0.05).

이상의 결과에서 불소화합물을 이용한 불소양치용액의 다양한 농도를 직접 배양 치은 섬유아세포에 적용했을 때, 낮은 농도보다 높은 농도에서 세포활성도의 억제를 보였고 배양 3일째에는 0.2% NaF와 0.1% SnF<sub>2</sub>를 제외하고 적용된 시간에 관계없이 대조군 수준의 세포활성도를 회복하였다. 0.1% SnF<sub>2</sub>는 배양 1일, 2일, 3일째에도 대조군 수준의 세포활성도를 회복하지 못했다.

#### IV. 총괄 및 고찰

경제 및 문화의 발달과 식생활의 변화에 따라 증가하고 있는 치아우식증은 병원체요인, 숙주요인, 환경요인에 의한 일련의 화학세균 과정에 의한 치질의 파괴현상으로 치질중에 무기질이 탈회되고 유기질이 파괴되어 치아조직의

결손을 초래하는 치의학분야의 3대 구강질환중 하나이다. 이러한 치아우식증이 소아에서는 성인에 비해 발생빈도가 높고, 진행속도가 빠르며 수복 후에도 이차우식증이 자주 일어나며 이는 유치의 해부학적인 특성이외에도 아동의 우식유발식품 선호와 성인에 비하여 구강위생 관리능력이 부족하기 때문이다<sup>2,3</sup>). 많은 환자들이 고통받고 있는 치아우식증에 대한 예방법 중 불소를 이용한 예방법이 가장 효과적인 것으로 알려져있다<sup>22</sup>). 불소의 이용은 역학적 연구결과 음료수의 불소농도가 높은 지역에서 치아우식 발생률이 낮다는 사실이 밝혀진 이래 불소의 국소도포, 불소용액양치법, 상수도수불화 등을 통해 시행되고 있다. 불소화합물을 이용하여 치아우식증을 예방하는 대표적인 방법은 상수도수불화(water fluoridation)와 불소용액양치법(fluoride mouthrinsing)이라고 불 수 있다<sup>8,11-15</sup>).

미국의 Dean<sup>8</sup>)에 의해 음료수내의 1ppm 불소가 치아우식예방에 가장 적당하다고 보고한 이래 1945년 미국 미시간주 Grand Rapid시에서 수돗물에 1ppm의 불소를 첨가하여 50-60%의 치아우식증 감소효과를 보았으며, 그후 미국과 서구의 많은 도시에서 상수도수불화를 시행하고 있으며 국내에서는 구강보건사업의 일환으로 진해시(1981), 청주시(1982), 과천시(1994)



에서 시범지역으로 실시중이다. 하지만 음료수 불화가 되지 않은 지역에서는 불소국소도포, 불소보충제, 불소용액양치, 불소치약 등을 사용한다. 이중 저농도의 불소를 반복 사용할 수 있으며 20-50% 치아우식증 예방효과를 가지는 불소용액양치법이 효과적이다<sup>7,35)</sup>.

불소용액양치법에 사용되는 불소의 조성파 사용법은 다음과 같다.

NaF인 경우에, 0.2% (900ppm)는 일주일에 한번 양치하고 0.05% (225ppm)는 하루에 한번 양치하며 0.02% (100ppm)는 하루에 두번 양치하는 방법으로 사용하고, SnF<sub>2</sub>는 0.1% (243ppm)로 하루에 한번 양치하고, APF인 경우는 0.02% (200ppm)로 하루에 한번 양치하는것으로 사용한다.

불소(fluorine)는 본래 무색, 무취의 할로젠 원소로서 자연계에서는 단독으로 존재하지 못하고 다른 원소와 화합물(fluoride)을 이루어 존재하며, 불소의 약리작용은 치아와 골조직에의 작용을 제외하고는 유독 물질로 작용한다<sup>16)</sup>. 불소는 농도에 따라 효소작용을 억제하고 조직호흡과 험기성 당 분해작용을 감소시키며 또한 체외에서 유용한 항응고제이고 적혈구에서 당 분해작용과 같은 생체 활동을 중단시킨다고 보고되고 있다<sup>16)</sup>. 불소의 항우식작용은 법랑질의 내산성증가, 법랑질의 성숙도 증가, 초기 법랑질 우식증의 재광화, 미생물의 활성약화, 치아의 형태 증진 등으로 알려져있다<sup>1-5,24-27)</sup>

Margolis등<sup>35)</sup>에 따르면 불화물의 도포방법이나 농도보다는 저농도일지라도 반복적인 불화물의 공급이 가장 중요하고, 초기 우식 병소의 재석회화에 대한 불소제재의 효과는 불소의 공급량, 농도, 공급방법 보다도 규칙적인 반복사용에 달려있다고 하였다. 우식감소와 예방에 가장 효과적인 불소 사용은 저농도의 불소를 규칙적으로 반복 사용하는 도시상수도수 불화와 불소용액양치법이라 할 수 있다.

Bibby and Van Kesteren<sup>23)</sup>, 조<sup>27)</sup>, 인<sup>28)</sup> 등이 불소가 구강내 산생성균의 대사와 성장에 미치는 연구에서 항균효과를, Van Loveren<sup>24)</sup>, Brown<sup>29)</sup>, 이<sup>30)</sup>등에 의해 불소양치법이나 불소의 국소도포에 의해 일어나는 치태내의 항균

작용등에 대한 보고가 있다.

불소양치용액에 관한 연구를 살펴보면, Carl등<sup>10)</sup>에 의한 불화소다, 불화석 양치용액 연구에서 불화석이 불화소다보다 항균효과가 있다하였고, 불화소다는 같은 농도에서 무시할만하다고 하였다. 항균효과는 불소이온보다 주석이온의 결과라고 하였다.

Sweiterman<sup>31)</sup>에 의하면 불화소다는 어린이에게 유용하고 불화석은 어른에게 유용하며, NaF는 상피에서 형태적, 조직학적 변화가 없고, SnF<sub>2</sub>는 백색의 치은 피막을 보이고 궤양, 부육 형성은 없고, 불편감도 없음을 보고하였다. 그리고 치은퇴축은 불소이온보다 주석이온의 영향임을 보고하였다. Lab<sup>32)</sup>에 의하면 불화나트륨 국소도포후 치은관찰에서 경미한 상피표층의 수축을 보이지만 조직학적으로는 변화 없음을 보고했다.

세포배양법에 가장 많이 사용되는 세포는 섬유아세포인데 이 세포는 비교적 배양이 용이하고 외부자극에 대해 세포분열을 하고 결합조직의 기질합성을 하며 조직의 흡수 속도 등을 변화시키는 성질을 갖고 있으므로 세포배양에 광범위하게 이용되고 있다<sup>33)</sup>. 이러한 세포배양법을 이용한 일반적인 세포독성 측정 방법으로는 약제의 적용후 생활세포수를 산정하는 방법, 세포분해후 단백질측정법, 세포증식에 방사성 동위원소를 이용하는 방법 등이 있으나 정확도나 실험과정중에 복잡성 등의 문제점이 발견되었다. 최근에는 이를 개선한 색의 차이를 이용하여 세포의 수나 활성도를 알 수 있는 3-(4,5-dimethylthiazol-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide [이하 MTT]가 많이 이용된다. 세포독성 측정방법에 사용된 MTT는 치과영역의 여러 재료의 독성을 평가하는데 있어서 최근에 많이 행해지고 있는 것으로 MTT용액 속에 있는 tetrazolium 환이 활성화된 미토콘드리아 내에 있는 dehydrogenase와 반응하여 비용해성의 짙은 색 MTT formazan product를 형성하게 된다. MTT는 이러한 색의 변화정도를 ELISA reader를 이용하여 감지시켜 흡광도를 측정하여 살아있는 세포의 수나 활성정도를 알 수 있게 해주는

방법으로서, 다른 세포수 산정이나 방사성 동위원소 등을 이용한 것보다 한번에 많은 양을 정확하고 간단하게 측정할 수 있는 방법이다<sup>17-21)</sup>.

현재까지의 연구는 불소제제의 재광화효과와 불소화합물의 치태내 우식유발세균의 성장과 대사에 대한 연구가 주를 이루었다. 이에 저자는 세포단위를 이용한 인체적합성을 판정하기 위해, 불소의 자가도포 방법중 하나이며 저농도의 불소를 반복적으로 적용할 수 있는 불소양치용액이 소아의 치은 섬유아세포에 끼치는 영향에 관한 연구의 일환으로 생체의 방법을 사용하여 다양한 농도의 불소양치용액이 치은 섬유아세포의 형태와 활성도에 미치는 영향을 연구하였다.

본 연구에서는 주 1회 양치용액인 0.2% NaF와 매일 양치용액인 0.05% NaF, 0.02% NaF와 0.1% SnF<sub>2</sub>로 배양 치은 섬유아세포에 1분간 적용후 24, 48, 72시간 배양후 섬유아세포의 형태와 활성에 미치는 영향에 관하여 평가하였다.

불화나트륨 양치용액의 적용에서 섬유아세포의 형태는 고농도에서 세포돌기의 부분적인 소실과 둥근 형태를 보였으나 3일 배양후에는 0.2% 농도에서만 부분적인 세포돌기의 소실을 보일 뿐 형태회복을 보였다. 0.1% 불화석 양치용액은 배양 1일째, 배양 3일째에도 둥근 세포 형태와 세포돌기의 소실을 보여 형태가 회복되지 않았다. 불화나트륨 양치용액에 대한 배양 섬유아세포에서 배양 1일째, 배양 3일째에 DNA 합성 감소를 보이지만 유의하지는 않았다. 그러나 0.1% 불화석 양치용액에 대한 배양 섬유아세포에서는 배양기간에 관계없이 유의하게 DNA 합성을 감소시켰다. ( $p < 0.05$ ) MTT assay를 이용한 섬유아세포의 활성도 평가에서는 0.02% 불화나트륨 양치용액은 배양 1, 2, 3일에도 감소를 보이지만 유의한 수준은 아니었으며, 0.05% 불화나트륨 양치용액은 배양 1, 2, 3일째에 감소를 보이지만 배양 3일째에는 활성도를 회복하여 유의한 수준은 아니었다. 0.2% 불화나트륨 양치용액은 배양기간에 관계없이 세포 활성도가 유의하게 감소하였으며 배양기간에

따라 회복양상을 보였다. 0.1% 불화석 양치용액은 배양기간에 관계없이 세포활성도의 유의한 감소를 보이고 배양기간에 따라 세포활성도 감소를 보여 세포활성도의 회복양상이 나타나지 않았다.

이상의 결과에서 임상적으로 부작용이 적으며 효과적으로 알려진 불소양치용액이 실험실에서 배양 치은 섬유아세포에 직접 가해질 경우 일반적으로 이용되는 농도에서 경미한 세포활성의 억제를 보였다. 이러한 결과는 불소가 치아, 골조직을 제외한 모든 조직에 유해하다는 사실과 일치하고 불소용액이 구내세균의 활성을 억제한다는 사실과 일치한다.

비슷한 불소농도인 0.05% 불화나트륨과 0.1% 불화석에서, 0.1% 불화석이 더 유의한 세포활성도 감소를 보이는 결과는 불소이온보다 주석이온의 영향이라는 다른 연구와 일치하며<sup>10, 31, 32)</sup>, 불화석은 그자체가 산성이고 주석이 중금속으로 치은에 표피탈락작용이 있을 것으로 예측된다. 다양한 형태의 질환을 가지는 치은에 대한 불화석의 효과에 대한 관심을 가져야 하겠다.

실험결과에 따르면 불화석 양치용액은 치은 섬유아세포에 직접 가해지는 경우 고도의 세포독성을 보였고, 불화나트륨 양치용액이 직접 가해지는 경우에는 세포활성도의 일시적인 감소 및 점진적인 회복을 관찰할 수 있었다. 이러한 결과는 구강내 창상이 존재할 때 불소양치는 법랑질 재석회화, 항미생물효과의 장점을 초과하는 문제점을 야기할 수 있으리라 추론할 수 있는데, 선학들의 임상연구에서는 조직학적 수준에서 그러한 세포독성의 증거는 보이지 않았고, 여기에는 타액, 조직삼출액등과 혼합되면서 희석되었고 숙주내의 면역기능에 의한 평형상태가 유지되는등 여러 국소요인이 작용하는 것으로 알려져있다. Lindhe 등<sup>34)</sup>에 따르면 내장상피(epithelial lining)가 하방 세포들을 보호한다고 하였다. 불소양치용액의 임상적 연구에서 본 실험 결과로 예측할 수 있는 치은 섬유아세포에 대한 고도의 세포활성도 억제로 인한 창상치유의 지연이나 구내 연조직 손상이 나타나지 않는 이유는 불소양치용액이 체액이나

상피장벽으로부터 일차적으로 보호된 후 저하된 농도가 세포독성의 역치를 초과하지 않아서 이들 용액 자체가 세포독성을 지녀도 창상치유가 방해받지 않을 것으로 사료된다.

이상과 같은 본 연구의 결과 및 생체에서의 국소적 약물 작용의 억제력을 고려해 볼 때 불소양치용액의 사용에 있어 적용 방법적 측면에 대한 고려가 필요할 것이다. 불화석용액이 불화나트륨용액과 대등한 효과가 있고 구강내 세균에 대한 억제력이 크다고 알려져있지만 맛이 좋지 않고 화학적으로 불안정하고 주석이온에 의한 섬유아세포의 고도 활성화억제를 보이므로 불화나트륨용액이 어린이에게 권장되며 0.2% 불화나트륨 보다 0.05%나 0.02% 불화나트륨이 어린이 불소양치용액으로 더 적합하고 창상면에 직접 가해질 때에는 불소양치용액의 사용방법에 주의를 기울여야 할 것이다.

본 실험은 제한된 조건하에서 단위세포를 대상으로 한 실험으로 실제구강내와 조건이 많이 다르다. 즉 타액, 조직삼출액등과 혼합되면서 희석되고 숙주내의 면역기능에 의한 평형상태가 유지되므로 위의 실험결과와 동일한 영향을 미친다고 할 수 없으므로 임상적용을 위한 실험이라고 볼 수 있다.

## V. 결 론

포에 미치는 영향을 평가하기 위해 치은 섬유아세포를 배양후 불소양치용액을 1분간 적용후, 도립현미경을 이용한 세포형태의 관찰과 [<sup>3</sup>H]-thymidine을 이용한 DNA 합성에 미치는 영향, MTT assay를 이용한 치은 섬유아세포의 활성도를 평가하여 다음과 같은 결론을 내렸다.

1. 불화나트륨 양치용액을 가한 경우, 0.05%, 0.2% 농도에서 세포형태가 등글어지고 세포돌기의 부분적인 소실을 보이지만 배양시간이 지날수록 형태회복을 보였다.
2. 0.1% 불화석 양치용액을 가한 경우는 동근 세포형태와 세포돌기의 상실을 보이고 형태회복이 없었다.
3. 치은 섬유아세포 배양 1일, 3일째 불소양치용액의 DNA 합성이 감소되었지만 0.1% 불화석 양치용액만이 대조군에 비해 유의하게 낮았다( $p < 0.05$ ).
4. 치은 섬유아세포에 불소용액을 적용한 경우, 배양 3일째 0.2% 불화나트륨과 0.1% 불화석을 제외하고는 적용시간에 관계없이 대조군 수준의 세포활성을 보였다.
5. 0.05%와 0.02% 농도의 불화나트륨을 비교하면, 0.05% 농도가 0.02% 농도보다 높은 세포활성 억제력을 보이거나 유의한 수준은 아니었다( $p > 0.05$ ).

이상의 결과를 종합하여 볼 때 현재 불소양치용액으로 사용하고있는 0.2% 불화나트륨과 0.1% 불화석을 실험실에서 직접 치은 섬유아세포에 가해질 경우 세포독성을 보이며, 0.05%, 0.02% 불화나트륨은 배양기간에 따라 세포활성의 회복경향을 보이므로 불소양치용액은 불화나트륨이 불화석보다 유리하며, 농도는 0.02% 불화나트륨이 낮은 세포활성 억제를 보이므로 적당할것으로 사료된다.

## 참고문헌

1. Wei SHY : Pediatric dentistry : Total patient care. Lea & Febiger, Philadelphia, 57-79, 1988.
2. Pinkham JR : Pediatric dentistry : Infancy through adolescence(2th ed.). W. B. Saunders company, philadelphia, 192-205, 1994.
3. McDonald RE : Dentistry for the child and adolescent(6th ed.). Mosby, 233-255, 1994.
4. Dawes C and Weatherell JA : Kinetics of fluorides in the oral fluids. J Dent Res, 69 : 638-644, 1990.
5. Fejerskov O, Manji F and Baelum V : The nature and mechanisms of dental fluorosis in man. J Dent Res, 69(Spec, Iss) : 692-

- 700, 1990.
6. TenCate JM : In vitro studies on the effects of fluoride on de-and remineralization. *J Dent Res*, 69(Spec Iss) : 614-619, 1990.
  7. 윤승철, 손홍규 : NaF가 법랑질 재광화와 탈회에 미치는 효과. *대한소아치과학회지*, 22 : 592-610, 1995
  8. Kunzel W : Effect of an interruption in water fluoridation on the caries prevalence of primary and secondary dentition. *Caries Res*, 14 : 304-310, 1980.
  9. Tinanoff N, Bray S, Lindhe J and Socransky S : The effect of NaF and SnF<sub>2</sub> mouthrinses on bacterial colonization of tooth enamel : TEM and SEM studies. *Caries Res*, 10 : 415-426, 1983.
  10. Carl J, Anderes GJ, Schaeffer JC and Winder AS : Comparison of antibacterial properties of stannous fluoride and sodium fluoride mouthwashes. *J Dent Res*, 53 : 457-460, 1974.
  11. Horowitz HS, Creighton WE, McClendon BJ : The effect on human dental caries of weekly oral rinsing with a sodium fluoride mouthwash. *Arch Oral Biol*, 16 : 609-616, 1971.
  12. Radike AW, Gish CW, Peterson JK, King JD, Segreto V : Clinical evaluation of stannous fluoride as an anticaries mouthrinse. *J Am Dent Assoc(JADA)* 86 : 404-408, 1973.
  13. Heifetz SB, Meyers RJ, Kingman a : A comparison of the anticaries effectiveness of daily and weekly rinsing with sodium fluoride solution : final results after three years. *Pediatric Dent* 4 : 300-303, 1982.
  14. 김종배 : 불소용액양치사업의 효과에 관한 연구. *대한구강보건학회지* 4권 1호, 1980.
  15. Heifetz SB and Horowitz HS : The amounts of fluoride in current fluoride therapies : Safety considerations for children. *J Dent Child*, 52 : 257-269, 1984.
  16. Meyers FH, Jawetz E, Goldfien A : Review of medical Pharmacology, 5th edition, Lange, 449-451, 1976.
  17. Mosmann T : Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival : Application to proliferation and cytotoxicity assays. *J Immunol Method*, 65 : 55-63, 1983.
  18. Imai Y, Watanabe A, Chang PI, and Masuhara E : Evaluation of the biologic effects of dental material. Using a new cell culture technique. *J Dent Res*, 61(8) : 1024-1027, 1982.
  19. Wataha JC, Craig RG and Hanks C T : Precision of new methods for testing in vitro alloy cytotoxicity. *Dent Mater*, 8 : 65-71, 1992.
  20. Kasugi, Hasegawa N and Ogura H : Application of the MTT colorimetric assay to measure cytotoxic effects of phenolic compounds on established rat dental pulp cell. *J Dent Res*, 70 : 127-130, 1991.
  21. 임미경, 김은철, 유수경, 김강주 : 레진 배양액의 세포독성에 관한 연구. *대한치과보존학회지*, 18 : 369-376, 1993.
  22. World Health Organization : Fluorides and Human health. WHO Monograph Series 59. Geneva, WHO, World Health Organization, 278-279, 1970.
  23. Bibby GG, Van Kesteren M : The effect of fluoride on mouth bacteria. *J dent Res* 19 : 391-402, 1942.
  24. Van Loveren C : The antimicrobial action of fluoride and its role in caries inhibition. *J Dent Res*, 69(Spec. Iss) : 676-681, 1990.
  25. Van der Hoeven JS, Frankken HC : Effect of fluoride on growth and acid production by *Streptococcus mutans* in dental plaque. *Infect Immun*, 45 : 356-359, 1984.
  26. Maltz M and Emilson CG : Susceptibility of oral bacteria to various fluoride salts.

- J Dent Res, 61 : 786-790, 1982.
27. 조성진 : 불소가 유산균의 증식과 포도당 대사에 미치는 영향에 관한 생체의 연구. 대한소아치과학회지, 17 : 51-59, 1990.
  28. 안동성 : 식염과 중조가 구강세균의 산 생성에 끼치는 영향에 관한 생체의 연구. 대한구강보건학회지, 15 : 163-168, 1991.
  29. Brown LR, White JO, Horton IM, Dreizen S and Streckfuss JL : Effect of continuous fluoride gel use on plaque fluoride retention and microbial activity. J Dent Res, 62 : 746-751, 1983.
  30. 이인숙, 이종갑 : 불소화합물이 Streptococcus mutans의 증식에 미치는 영향에 관한 실험적 연구. 대한소아치과학회지, 11 : 151-156, 1985.
  31. Swieterman RP, Muhler JC, Swenson HM : The effect of highly concentrated solutions of stannous fluoride on human gingival tissue. J Periodontal, 32 : 131-138, 1961.
  32. Lab, D : Histological study of gingival tissue after topical application of sodium fluoride. J All-India DA, 23 : 4, 1951.
  33. 이상훈, 손동수 : 소아치과영역에서 사용되는 유치금속관의 섬유세포 친화성에 관한 실험적 연구. 대한소아치과학회지, 17 : 33-46, 1990.
  34. Lindhe J, Heyden G, Svanberg G, Loe H, Schiott C : Effect of local applications of chlorhexidine on the oral mucosa of the hamster. J Periodont Res 5 : 177-182, 1970.
  35. Margolis HC, Morenno EC, and Murphy BJ : Effect of low levels of fluoride in solution on enamel demineralization. J Dent Res, 65 : 23-29, 1986.

## 사진부도 및 설명

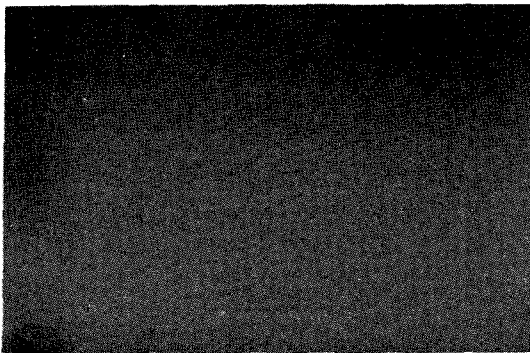
- 사진 1. 대조군「배양 1일째」: 치은 섬유아세포들은 정상적인 방추형의 세포형태와 세포돌기를 보인다.
- 사진 2. 0.02% NaF 농도의 불소양치용액을 가한 군「배양 1일째」: 치은 섬유아세포들은 정상적인 형태 및 세포돌기를 보인다.
- 사진 3. 0.05% NaF 농도의 불소양치용액을 가한 군「배양 1일째」: 치은 섬유아세포들은 약간 둥글어진 형태와 정상적인 세포돌기를 보인다.
- 사진 4. 0.2% NaF 농도의 불소양치용액을 가한 군「배양 1일째」: 치은 섬유아세포들은 약간 둥글어진 형태를 보이며 세포돌기들이 부분적으로 소실되었다.
- 사진 5. 0.1% SnF<sub>2</sub> 농도의 불소양치용액을 가한 군「배양 1일째」: 치은 섬유아세포들은 둥근 형태로 되었고 세포돌기는 소실되었다.
- 사진 6. 대조군「배양 3일째」: 치은 섬유아세포는 배양 1일째 대조군에 비해 증식되었고 정상적인 방추형의 형태 및 세포돌기를 보인다.
- 사진 7. 0.02% NaF 농도의 불소양치용액을 가한 군「배양 3일째」: 치은 섬유아세포들은 정상적인 형태 및 세포돌기를 보인다.
- 사진 8. 0.05% NaF 농도의 불소양치용액을 가한 군「배양 3일째」: 치은 섬유아세포들은 정상적인 형태 및 세포돌기를 보인다.
- 사진 9. 0.2% NaF 농도의 불소양치용액을 가한 군「배양 3일째」: 치은 섬유아세포들은 정상적인 형태를 보이나 세포돌기들이 부분적으로 소실되었다.
- 사진 10. 0.1% SnF<sub>2</sub> 농도의 불소양치용액을 가한 군「배양 3일째」: 치은 섬유아세포들은 둥근 형태이며 세포돌기는 소실되었다.

사진부도 1

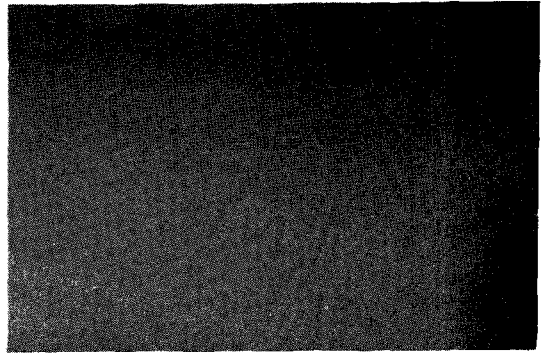
배양 1일



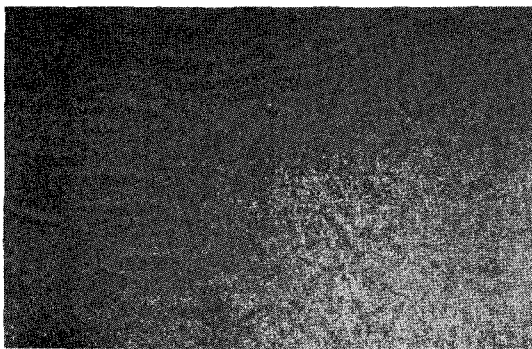
[사진1. 대조군]



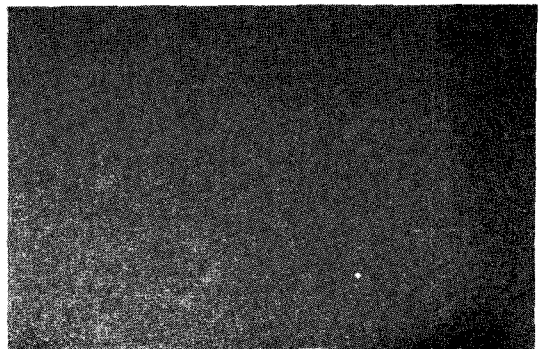
[사진2. 0.02% NaF]



[사진3. 0.05% NaF]



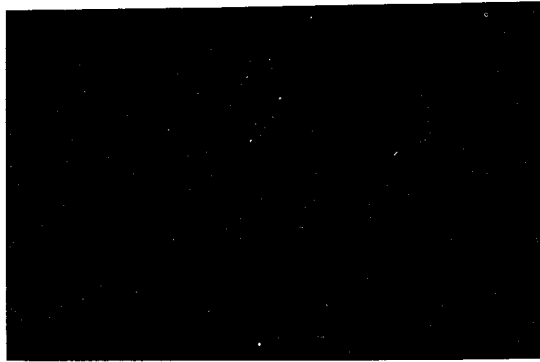
[사진4. 0.2% NaF]



[사진5. 0.1% SnF<sub>2</sub>]

사진부도 2

- 배양 3일 -



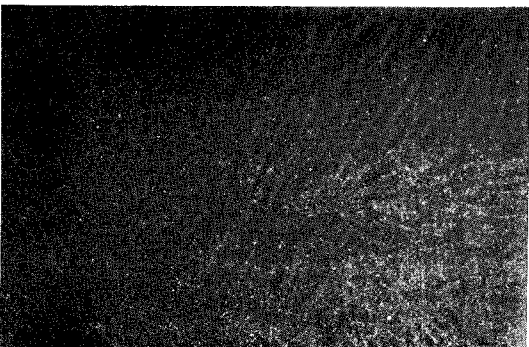
[사진6. 대조군]



[사진7. 0.02% NaF]



[사진8. 0.05% NaF]



[사진9. 0.2% NaF]



[사진10. 0.1% SnF<sub>2</sub>]