

레이저와 불소가 인공우식병소의 항균성 및 내산성에 미치는 영향에 관한 연구

단국대학교 치과대학 소아치과학교실

유정민 · 김용기

Abstract

EFFECTS OF LASER AND FLUORIDE TREATMENT ON THE RESISTANCE TO MICROORGANISM AND ACID IN ARTIFICIAL CARIOUS LESION

Jeong-Min Yoo, Yong-Kee Kim

Dept. of Pediatric Dentistry, College of Dentistry, Dankook University

The main purpose of this study was to evaluate the acid resistance and antimicrobial effect of fluoride-laser combined application. Recently extracted third molars were used. 5x3mm of the buccal and lingual specimens were exposed and incipient artificial carious lesions were formed by keeping them in the artificial cariogenic solution for 5 days. They were divided into five groups and treated with fluoride and laser according to the pre-determined regimen. The acid resistance was compared between groups by chemical quantitative analysis of the calcium and phosphorous released into the test solution after single or combined application of fluoride and laser. The antimicrobial effect of each group was analyzed by counting the number of colony forming units after microbial incubation.

The results from the present study can be summarized as follows;

1. Experimental groups showed lower values in calcium and phosphorous contents as well as in CFU/ml (colony forming units) than control group.
Combined application groups showed lower values than single application groups.
2. Acid resistance and antimicrobial effect by fluoride and laser treatment were confirmed in this study.
3. Based upon the above-mentioned results of this study, it can be assumed that the use of laser-fluoride combined application may provide the child and adolescent patient population with antimicrobial effect as well as acid resistance. Further studies using various materials and experimental conditions are being encouraged.

I. 서 론

여러 가지 복합요인이 함께 작용하여 산에 의한 법랑질 탈회가 일어나는 치아우식증은 단순히 치아경조직의 탈회 과정에 의해서만 진행되는 것이 아니라, 재석회화 과정이 지속적으로 반복되어 나타나는 현상으로 알려져 있으며 이러한 과정들은 사람마다 각기 다른 구강위생상태, 식이습관 등의 다양한 요인에 의해 크게 좌우된다¹⁾. 우식이 탈회와 재석회화 과정을 반복하면서 진행된다는 사실이 밝혀짐에 따라 Tencate²⁾ 와 Gelhard 등³⁾ 여러 학자들에 의하여 재석회화에 관한 연구가 활발히 이루어졌고, 백반상의 초기 법랑질 우식병소가 재석회화 과정에 의해 환원될 수 있다는 사실이 밝혀졌다⁴⁾.

불소는 1940년대초 국소도포법이 임상에 도입된 이래 현재까지 다양한 방법으로 치아우식 예방에 이용되어 왔고⁵⁾ 법랑질의 산용해도 감소효과, 세균의 생성과 부착 및 산생성 억제 효과를 지니며 치태에 침착되어 재석회화 과정을 촉진하는 작용이 있는 것으로 알려져 있다⁶⁾. 소량의 불소가 우식예방 효과를 나타내는 이유에 대해 Clarkson⁷⁾, Bruun 등⁸⁾은 저광화 법랑질과 법랑질 우식병소에 대한 불소의 친화력이 불소의 항우식 효과와 관련이 있다는 가설을 입증한 바 있다.

불소이온은 화합물의 종류나 농도 등에 따라 차이를 보이지만 재석회화 과정을 촉진하고 우식억제효과를 지닌 것으로 인정되고 있다. 국소도포용 불소화합물에는 불화소다, 불화염, 인산불화물 및 아민불화물 등이 있으며 가능한 많은 양의 불소를 치아표면에 유지할 수 있는 도포방법이 개발되었다. 이러한 도포법으로 수회 반복도포법, 이온 분리도입법, 산성화된 불소도포법등이 소개되었고 근래에는 레이저와 불소의 복합사용도 연구된 바 있다.

불소화합물은 치아의 내산성 증가작용, 초기 우식병소의 재석회화 촉진 작용과 같은 불소의 일반적인 효과 외에도 구강내 상주균에 대한 증식 억제 효과가 있는 것으로 알려져 있다⁹⁾. 특히 치아우식증을 일으키는 대표적인 원인균인

*Streptococcus mutans*를 억제하는 효과가 있는 것으로 보고되고 있다¹⁰⁾. 불소의 항우식 효과는 치아의 물리화학적 성상을 변화시키고 구강내 미생물의 대사에 영향을 주어 나타나는 것으로 알려져 있다¹¹⁾.

항균효과와 항우식효과 등을 나타내는 불소 화합물은 치아우식증의 예방과 초기 우식증의 재석회화에 효과적으로 적용될 수 있으며, 불소화합물 도포와 레이저를 복합 적용하여 법랑질에 침투하는 불소이온의 양을 증가시킬 수 있다는 여러 연구들에 기초하여 불소화합물과 레이저를 복합 적용시 항균 효과와 항우식 효과의 상승효과를 기대할 수 있을 것으로 추정된다. 이제까지 진행되어온 연구로 미루어보아 이 분야의 지속적인 연구는 보다 효율적인 우식 예방법의 개발이나 임상적용에 기여할 것으로 사료되며 특히 불소화합물과 레이저의 복합 적용이 항균 및 내산성에 미치는 영향과 그들의 상호 관련성에 관한 연구는 다소 미흡한 것으로 판단되었다.

이에 본 연구에서는 초기 우식병소를 인공적으로 유발시킨 후 불소와 레이저를 적용하여 용출된 칼슘, 인의 화학적 정량분석을 통해 각 실험조건에 따른 내산성을 비교평가하고, 각 균의 표본에 *Streptococcus mutans* 등의 세균을 증균하는 방법으로 항균효과를 비교 분석한 결과 다소의 지견을 얻었기에 보고하는 바이다.

II. 문헌 고찰

1. 레이저 치의학의 발달

최초의 레이저는 1960년 Maiman¹²⁾에 의해 개발된 Maser이며, 이는 Microwave Amplification by Stimulated Emission of Radiation의 첫 자들을 사용한 합성어로 펄스형 루비레이저이다.

Maiman에 의해 최초의 레이저가 개발된 이후 레이저 기술의 지속적인 발전이 이루어졌으며 여러 종류의 레이저가 개발되었고, 에너지를 정확하게 조절하고 광선을 특정한 직경으로 시준할 수 있게 됨에 따라 치과영역에서는 인접한 지지 연조직, 법랑질, 상아질, 치수조직

등에 나타날 수 있는 의원성의 손상없이 치의학 분야에서 사용 가능하게 되었다.

치의학 영역에서 레이저의 임상적용시 위생성을 알아보기 위한 연구로 Blankenau 등¹³⁾은 치수에 대한 영향을 조사한 바 있다. 이 연구에서 1-2 W, 0.1초의 조사간격으로 치수 조직을 제거하였을 때 백아법랑경계부와 치근단에서 온도를 측정한 결과 치아의 과도한 온도 상승은 나타나지 않았음을 보고하였다.

주로 치과에서 이용 가능한 레이저는 Nd-YAG, 탄산가스, 아르곤 레이저등이 있고 치과분야에서도 레이저에 대한 관심이 증가되어 현재는 경조직뿐 아니라 연조직 시술등 여러 분야에 이용되고 있다. 1960년대의 레이저 연구는 주로 치아우식 제거와 와동형성에 국한되었으나 영역이 점차 확대되어 최근에는 연조직 치료, 치주치료, 상아질의 지각과민 치료, 광중합 수복재의 중합, 레진 부착시 치면처리, 교정용 bracket의 접착, 근관치료시 치근단 폐쇄, 치아우식의 예방 및 제거 등의 여러분야에서 레이저 적용에 대해 활발히 논의되고 있다¹⁴⁻¹⁶⁾.

현재에 이르러서는 10종류 이상의 레이저가 치의학 연구에 이용되고 있다. 레이저는 활성 매체에 따라서 기체 레이저(CO₂, Argon, He-Ne)와 고체 레이저 (Ruby, Nd-YAG, Nd-Glass), 액체 레이저(Dye) 그리고 반도체 레이저 등으로 분류되고 출력에 따라서 저출력, 중출력, 고출력 레이저로 분류된다. 또 레이저의 파형에 따라 연속파와 펄스파로 파장에 따라서는 적외선, 자외선, 가시광선 영역의 레이저로 분류된다. 치과 시술에 사용되는 레이저는 치료되어야 할 부위에 강력하게 흡수되어 인접조직에 영향을 주지 않는 파장을 선택해야 한다. 이중 치과 영역에서 사용되는 레이저는 대개 중출력으로 연속파와 펄스파가 사용되며 탄산가스, 아르곤, Nd-YAG 레이저가 치과용으로 흔히 사용되며 Nd-YAG는 1.06 μ m, 탄산가스는 10.6 μ m, 아르곤은 488-514 μ m로 서로 다른 파장을 가지고 있어 조직에 대한 흡수 에너지와 통과 깊이가 다르다⁷⁾.

2. 불소에 의한 항균효과와 우식 억제 효과에 관한 연구

치아우식증은 세균의 대사결과로 발생하는 유기산에 의해 치아표면이 탈회되는 현상이며 치아우식증의 발생을 위해서는 숙주로서의 구강내 치아, 미생물, 기질로서의 탄수화물등 이 세가지 조건이 구비되어야 한다. 따라서 치아우식증을 일으키는 세균의 수를 감소시킬 수 있다면 우식 발생을 억제하거나 예방할 수 있을 것이다.

불소는 세균의 초기 부착, 집성을 방해하고 세균대사에 영향을 미치는 것으로 알려져 있다¹⁸⁻²⁰⁾. 세균의 산생성과 증식을 억제하는 불소의 효과는 불소용액의 pH감소에 의해 증진된다²¹⁻²³⁾. 치아우식증과 치주질환에 관계된 구강내 상주균에 대한 불소의 항균효과에 대해서는 생체와 실험실 과정을 대상으로 여러 연구들²⁴⁻²⁶⁾이 이루어졌고, 사람을 대상으로 한 임상연구에서 불소가 특히 *Streptococcus mutans*와 *Actinomyces*를 감소시키는 것으로 보고되었다²⁷⁾.

불소는 법랑질의 탈회를 억제하는 항우식 효과가 인정되어 이미 우식 예방분야에 널리 사용되고 있다.

Featherstone²⁸⁾과 Zimmermann²⁹⁾은 생체실험에서 불소의 재석회화 상승효과를, Silvestone³⁰⁾은 불소에 의해 재석회화량과 속도가 증가됨을 보고한 바 있다.

초기 법랑질 우식병소는 우식와동이 형성되기 전단계인 백반상 법랑질 탈회현상을 나타내며 임상적으로 식별이 용이하지 않아 방치되어 깊은 우식병소로 발전하게 된다. 특히 소아 및 청소년 시기의 초기 우식병소는 상당히 빠른 속도로 진행되므로 이 시기의 우식예방은 더욱 중요한 것으로 사료되며, 우식 예방에 널리 이용되어온 불소는 법랑질 표층에서 용해도가 낮은 fluoroapatite를 형성하여 법랑질의 탈회를 억제하는 효과가 탁월한 것으로 알려져 있다³¹⁻³³⁾. 또한 불소는 우식 병소의 재석회화 과정을 촉진하고 법랑질의 미세 경도를 증가시켜 준다³⁴⁾.

Brudevold 등³⁵⁾에 의해 개발된 APF(Acidulated Phosphoric Fluoride)의 표면 흡착과정에

의한 주된 화학적 반응산물은 CaF_2 로 알려져 있으며³⁶⁾ 이것이 불소 국소도포에 의한 우식 억제효과를 나타내는 역할을 담당한다고 보고되었고³⁷⁾, 타액 내에서의 CaF_2 의 용해가 서서히 진행되어 이로 인해 내산성과 재석회화에 큰 영향을 미친다는 연구들이 보고된 바 있다^{38, 39)}.

3. 레이저에 의한 항균효과와 우식 억제 효과에 관한 연구

1964년 Stern과 Sognaes가⁴⁰⁾ 레이저 조사에 의한 법랑질의 내산성 증가를, Goldman 등⁴¹⁾이 루비레이저 조사후 법랑질 표면 변화를 보고한 이래 레이저 조사로 치아우식증을 예방할 수 있다는 여러 연구들이 진행되어왔다.

Goodman과 Kaufman⁴²⁾은 아르곤 레이저와 불화나트륨 복합 사용시 법랑질의 불소 부착 증가와 산에 의한 용해도 감소를 X선 회절 등을 통한 실험으로 관찰하였으며, Yamamoto와 Sato⁴³⁾가 Nd-YAG 레이저에 의한 우식억제효과를, Featherstone과 Nelson⁴⁴⁾은 CO_2 레이저 조사에 의한 우식진행억제를 보고하였다. 국내에서는 김⁴⁴⁾이 CO_2 레이저조사에 의한 법랑질 내산성 증가를, 손과 민은⁴⁵⁾은 Nd-YAG 레이저에 의한 법랑질 내산성 증가를, 또 이 등⁴⁶⁾은 미세경도측정, 주사전자현미경 관찰등으로 CO_2 레이저 조사시 내산성과 우식억제효과를 보고하였다.

Hicks 등⁴⁷⁾의 연구에서는 아르곤 레이저를 250mW, 10초 동안 법랑질 표면에 조사시 인공우식 유발용액에 대한 항우식 효과가 관찰되었으며 그 이유를 유기질, 탄산염, 물 등의 감소로 인한 산에 대한 내성 증가로 설명하였다. 또 Hicks 등⁴⁸⁾은 치면열구 전색재를 아르곤 레이저로 중합시 편광 현미경하에서 우식 병소 깊이를 관찰하였고, Westerman 등⁴⁹⁾은 치근 표면에 아르곤 레이저를 조사한 다음 인공우식 용액에 담가둔 후 병소 깊이를 측정된 결과 비조사군과 비교시 병소 깊이가 상당히 감소하였다고 보고하였다. Flaitz 등⁵⁰⁾은 1.23% APF와 아르곤 레이저를 함께 사용하였을 때 우식 병소깊이 감소와 내산성 증가를 관찰하였고, 아르곤 레이저로 중합시킨 후 법랑질과

열구전색제 사이의 치아우식증의 발생과 진행을 조사한 연구에서는 레이저군의 인공우식의 깊이가 유의성 있게 감소하였으며 아르곤 레이저 중합후 열구 전색제 주변의 치아 우식의 발생이 감소하였다고 보고하였다⁴⁷⁾.

Goodman과 Kaufman⁴²⁾은 불화 나트륨 존재 하에서 아르곤 레이저를 조사하였을 때 불소 흡수량 증가와 산성 용액에서의 용해율 감소를, Yamamoto와 Sato⁴³⁾는 $\text{Ag}(\text{NH}_3)_2\text{F}$ 를 적용한 후에 정상 펄스형 Nd-YAG 레이저를 법랑질에 조사하여 불소흡수 증가와 탈회 감소를 보고하였다. 또한 Hick 등⁵¹⁾은 lesion 형성에 앞서 APF 도포후 아르곤 레이저의 조사시에 우식 예방 효과가 두드러지게 나타난다고 보고한 바 있다.

레이저에 의한 내산성 증가 현상에 대해 Stern 등⁴⁰⁾은 레이저에 노출된 법랑질 표층하부의 탈 석회화 감소와 법랑질 투과도 감소에 의해 항우식효과를 가진다고 하였고 Yamamoto와 Sato⁴³⁾는 온도 변화에 의한 결과로 법랑질 유기물의 투과성이 떨어져 탈석회화가 감소한다고 추정하였으며 Hicks 등^{47, 48)}은 법랑질 표면의 유기성분, 수분등의 감소로 광물질의 구조가 변형되어 산에 대한 내성이 증가한다고 설명한 바 있다. 또 Oho와 Morioka⁵²⁾는 레이저가 조사된 법랑질 표면에 생긴 미세공 사이로 칼슘, 인, 불소가 침착되어 재석회화가 진행되었기 때문이라고 설명하였다.

레이저에 의한 우식예방 효과와 우식억제 효과외에도 세균에 대한 레이저의 효과에 관한 연구도 이루어진 바 있다. 레이저의 살균효과에 대해 Klein 등⁵³⁾은 고출력 레이저를 사용할 때 뚜렷한 효과가 나타난다고 하였고 McGuff와 Bell⁵⁴⁾은 저출력 레이저에 대한 비교실험에서 세균증식에 효과가 없다고 하였다. 또 Zakariasen 등⁵⁵⁾은 CO_2 레이저를 사용하여 근관내 세균을 대상으로 멸균효과를 보고하였으며 Morioka 등⁵⁶⁾은 레이저의 순간적 고열로 나타나는 살균 및 항균작용에 의한 치태생성과 세균 성장억제를 연구한 바 있다.

III. 연구대상 및 방법

1. 연구 대상 및 재료

1) 실험 대상치아

최근에 발거하여 0.1% thymol 용액에 보관된 제 3대구치 중에서 협설면에 우식이나 구조적 결함 부위가 없는 총 50개의 치아를 대상으로 선정하였으며 실험 I과 실험 II에 각각 25개씩 배정하였다.

2) 실험 재료

불소제재로는 APF foam(Minute-Foam®, Oral-B, USA)을, 레이저는 Normal pulsed Nd-YAG laser(SunLase Master 12202, USA)를 사용하였고 항균실험 배지로 Brain heart infusion agar와 Mitis salivarius bacitracin agar를 사용하였다.

2. 연구방법

(1) 실험 I : 내산성 효과에 관한 비교실험

1) 대상치아의 준비

① 법랑질 세마

치관과 치근에 잔류된 조직을 스케일러로 제거하고, 불소가 포함되지 않은 퍼미스로 치면세마를 시행한 후 증류수로 세척 건조하고 2% 차아염소산 나트륨에 24시간동안 보관하여 표면에 부착된 유기물을 제거하였다.

② 치아 절단 및 분류

총 50개의 치아들을 ventilated disc로 절단하여 치근을 분리해낸 다음, 치관부를 협측 치관과 설측 치관으로 이등분하여 총 100개의 절편을 만들고 이중 무작위로 50개의 절편을 선택하여 실험 I의 내산성 관찰용 표본으로 사용하였다. 내산성 관찰을 위한 화학적 정량 분석용 표본 50개를 Table 1과 같이 분류하였고, 최외층 법랑질면의 100 μ m정도가 삭제되도록 carborundum paper(300-600 grit)로 연마하였다.

2) nail varnish 도포

5 \times 3mm의 접착 테이프를 준비된 절편의 중앙에 적합시킨 후 내산성 nail varnish를 균일하게 3회 반복 도포하였고 varnish가 완전히 건조된 후 부착시킨 접착 테이프를 떼어내어 각 절편마다 레이저와 불소가 적용될 부위에 동일한 면적의 법랑질 표면을 노출시켰다.

3) 초기 인공우식 유발

각각의 치아절편을 우식유발 용액 5ml가 담긴 시험관에 넣고 parafilm으로 밀봉하여 37 $^{\circ}$ C로 고정된 항온기에 넣고 5일간 보관하여 초기 우식병소를 유발시켰다. 인공우식용액은 0.1M 유산에 6%(w/v) hydroxyethyl cellulose (HEC, Aldrich Chem. Co.)를 첨가하고 pH를 4.0으로 조정하여 제조하였다. 우식이 유발된 각 절편들을 꺼내어 흐르는 물로 세척한 다음 다시 증류수로 세척 건조하였다.

Table 1. Sample grouping and regimen of laser-fluoride application

	Type of Pre-Treatment	Number of Sections for Chemical Analysis (n=50)
Group I	No Treatment	10
Group II	APF Application	10
Group III	Nd-YAG Laser Treatment	10
Group IV	Nd-YAG Laser Treatment after APF Application	10
Group V	APF Application after Nd-YAG Laser Treatment	10

4) 불소와 레이저의 적용

1.23% APF(4분 적용)와 Normal Pulsed Nd-YAG Laser(20W, 10Hz, 20초)를 사용해서 치아절편의 노출된 법랑질면(5×3mm)에 Table 1과 같이 분류하여 처리하였다. Nd-YAG Laser조사전에 레이저가 잘 흡수되도록 흑색 유성잉크를 도포하였고 레이저는 2W, 10Hz의 조사조건으로 레이저 광선을 인접부위로 이동시키면서 20초간 적용하였다.

5) 법랑질 내산성 검사

① 실험용액 제작

5×3mm의 법랑질면이 노출된 각각의 치아절편을 2ml KOH(1M)용액에 넣어 Shaker를 사용해서 24시간동안 회전시켜 칼슘과 인을 용출시켰다.

② 인용출량 측정

인산이온이 몰리브덴산 암모늄과 반응하여 생성된 몰리브덴산인 암모늄을 염화 제1주석으로 환원시켜 몰리브덴 청색의 흡광도를 690nm에서 측정함으로써 인산을 정량하는 molybdenum blue method를 이용하였다.

Ammonium molybdate 2ml와 stannous chloride 5방울을 실험용액에 첨가하여 Spectrophotometer(Ultrospec 2000 Pharmacia Biotech Co., Ltd.)를 이용해서 690nm에서 인의 용출량을 측정하였다.

③ 칼슘 용출량 측정

원자흡수분광측정기(Atomic Absorption Spectrophotometer, Spectr AA-20, Varian Techtron Pty. Limited, Mulgrave, Victoria, Australia)를 이용하여 용출된 칼슘이온의 양을 측정하였다.

6) 통계 분석

각 군의 유리된 칼슘, 인의 화학적 정량 분석 결과를 Oneway ANOVA test와 Duncan의 다중 비교분석으로 통계처리하였다.

(2) 실험 II : 항균효과에 관한 비교 실험

1) 대상치아의 준비

실험 I과 II를 위해 준비한 절편중 50개를 실험 I과 동일한 방법으로 처리하여 준비한 다음 Table II와 같이 분류하였다.

2) nail varnish 도포

5×3mm의 접착 테이프를 준비된 절편의 중앙에 적합시킨 후 내산성 nail varnish를 균일하게 3회 반복 도포하였고 varnish가 완전히 건조된 후 부착시킨 접착 테이프를 떼어 내어 각 절편마다 레이저와 불소가 적용될 부위에 동일한 면적의 법랑질 표면을 노출시켰다.

3) 초기 인공우식 유발

각각의 치아절편을 우식 유발 용액 5ml가 담긴 시험관에 넣고 parafilm으로 밀봉하여 37℃로 고정된 항온기에 넣고 5일간 보관하여 초

Table 2. Sample grouping and regimen of laser-fluoride application

	Type of Pre-Treatment	Number of Sections for Chemical Analysis (n=50)
Group I	No Treatment	10
Group II	APF Application	10
Group III	Nd-YAG Laser Treatment	10
Group IV	Nd-YAG Laser Treatment after APF Application	10
Group V	APF Application after Nd-YAG Laser Treatment	10

기우식병소를 유발시켰다. 인공우식용액은 0.1 M 유산에 6% (w/v) hydroxyethyl cellulose (HEC, Aldrich Chem. Co.)를 첨가하고 pH를 4.0으로 조정하여 제조하였다. 우식이 유발된 각 절편들을 꺼내어 흐르는 물로 세척한 다음 다시 멸균 증류수로 세척 건조하였다.

4) 불소와 레이저의 적용

1.23% APF(4분 적용)와 Normal Pulsed Nd-YAG Laser(50J/cm², 10Hz)를 사용해서 치아절편의 노출된 법랑질면(5×3mm)에 Table 2와 같이 분류하여 처리하였다.

5) 항균효과 검사

① 배지제조

Total culturable flora를 배양하기위하여 Brain heart infusion agar*¹⁾와 *S. mutans*를 배양하기위하여 Mitis salivarius bacitracin agar*²⁾를 사용하였고 pH 7.0으로 맞추어 제조하였다. 제조된 배지를 121°C에서 습윤 멸균하여 식힌 다음 petri-dish에 분주한 후 실온에서 건조시켜 사용하였다.

② 미생물 배양

준비된 50개의 치아절편을 분주하여 배양액에 넣고 Orbital shaker bath(KMC-1205SW2, Vision Scientific Co., Ltd.)를 이용하여 37°C에서 배양하였고 배양액은 Duplicated two dilution method를 이용하여 1/100로 희석한 후 각각의 배지에 시료를 접종하고 도말하였다. 도말한 배지를 37°C 배양기에서 2일 동안 혐기성

배양하여 colony forming units (CFU/ml)를 측정하였다.

③ 성장 균락 측정

배양후 성장한 균락을 측정하여 CFU/ml로 환산하였다.

6) 통계 분석

각 군의 CFU/ml를 Oneway ANOVA test와 Duncan의 다중 비교분석으로 통계처리하였다.

IV. 연구 성적

1. 화학적 정량분석 결과

총 50개의 치아절편을 대상으로 KOH(1M) 용액에 의해 용출된 칼슘과 인의 양을 정량분석하고 통계처리하여 Table 3-5와 같은 결과를 얻었다.

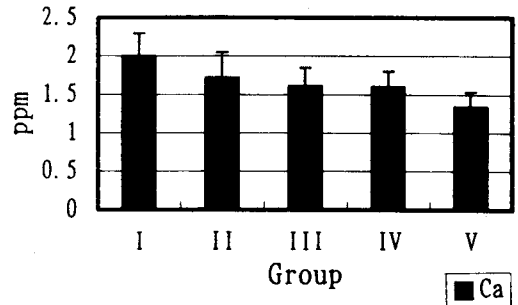


Fig. 1. Bar graph representing the mean amount of released calcium from tooth surface

Table 3. Means of calcium and phosphorous contents released from tooth surface with standard deviation

	I	II	III	IV	V
Ca(ppm)	2.00 ± 0.29	1.72 ± 0.33	1.61 ± 0.23	1.60 ± 0.20	1.34 ± 0.19
P(ppm)	0.055 ± 0.01	0.0043 ± 0.01	0.030 ± 0.01	0.022 ± 0.00	0.016 ± 0.00

*1 : Brain heart infusion 37g, Agar 20g, Distilled Water 1ℓ

*2 : Bac to tryptose 10g, Bacto proteose peptone No.3 5g, Bacto dextrose 1g, Bacto saccharose 50g, Dipotassium phosphate 4g, Bacto agar 15g, Trypan blue 0.075, Bacto crystal violet 0.0008g, Distilled Water 1ℓ

칼슘은 대조군인 I 군에서 가장 높은 수치를 나타냈고 레이저 적용후 불소를 적용한 V 군에서 가장 적은 용량이 용출되었고, 각 실험군간의 비교에서는 불소나 레이저 단독 적용군(II, III군)에 비해서 복합 적용군(IV, V 군)에서 더 낮은 수치를 나타냈다(Table 3, Fig. 1).

각 군간 칼슘 용출량의 통계학적 비교에서는 대조군(I 군)은 모든 실험군(II-IV 군)에 대하여 통계학적으로 유의한 차이를 보였고($p < .05$) II군과 III군, II군과 IV군, III군과 IV군을 제외한 모든 군간에 통계학적으로 유의한 차이가 있었다(Table 4).

인의 경우 전체적으로 칼슘에 비해 낮은 용량이 용출되었지만 칼슘과 유사하게 대조군인 I 군에서 가장 높은 수치를, 레이저 적용후 불소를 적용한 V 군에서 가장 낮은 수치를 나타냈으며 각 실험군간의 비교에서는 불소나 레이저 단독 적용군에 비해서 복합 적용군에서 더 낮은 수치를 나타냈다(Table 3, Fig. 2).

각 군간 인 용출량의 통계학적 비교에서는 모든 군간에 통계학적으로 유의한 차이가 있었다(Table 5).

Table 4. Inter-group comparison in calcium content released from tooth surface

	I	II	III	IV	V
I					
II	*				
III	*	-			
IV	*	-	-		
V	*	*	*	*	

* : Statistically significant difference ($p < .05$) (from Duncan's Multiple range test)

2. 항균효과에 관한 연구결과

총 50개의 치아절편을 대상으로 CFU/ml를 측정, 산출하고 통계처리하여 Table 6-8과 같은 결과를 얻었다. 대조군 및 실험군의 평균 CFU/ml와 표준편차는 Table 6과 같다. I 군에서 V 군으로 갈수록 total culturable flora와 *Streptococcus mutans* 모두 CFU/ml의 감소를 나타냈다.

Total culturable flora의 CFU/ml는 대조군인 I 군에서 가장 높은 수치를 나타냈고 레이저

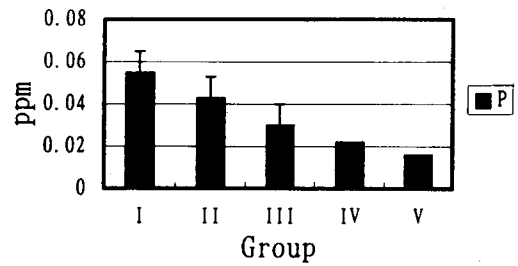


Fig. 2. Bar graph representing the mean amount of released phosphorous from tooth surface

Table 5. Inter-group comparison in phosphorous content released from tooth surface

	I	II	III	IV	V
I					
II	*				
III	*	*			
IV	*	*	*		
V	*	*	*	*	

* : Statistically significant difference ($p < .05$) (from Duncan's Multiple range test)

Table 6. Means of colony forming units(CFU/ml) with standard deviation obtained from MSB and BHI

	I	II	III	IV	V
CFU/ml of total culturable flora	750 ± 143	580 ± 79	550 ± 85	460 ± 107	250 ± 117
CFU/ml of total <i>Streptococcus mutans</i>	280 ± 42	230 ± 48	140 ± 52	120 ± 42	69 ± 23

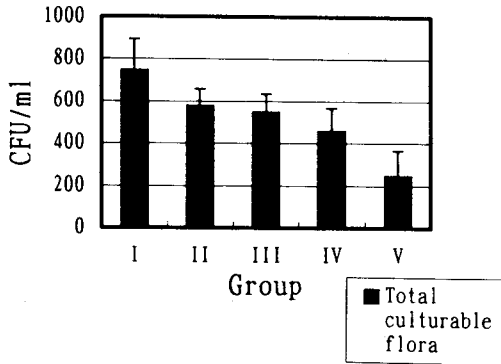


Fig. 3. Bar graph representing the mean colony forming units(CFU/ml) of total culturable flora obtained from BHI

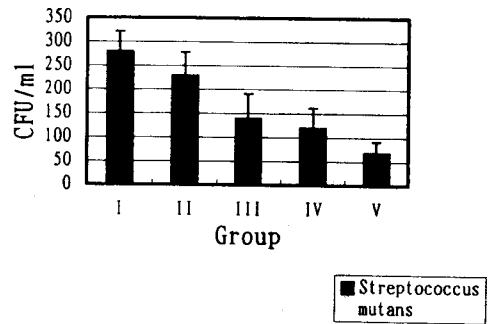


Fig. 4. Bar graph representing the mean colony forming units(CFU/ml) of Streptococcus mutans obtained from MSB

Table 7. Inter-group comparison of colony forming units(CFU/ml) in total culturable flora

	I	II	III	IV	V
I					
II	*				
III	*	-			
IV	*	*	-		
V	*	*	*	*	

* : Statistically significant difference ($p < .05$)

적용후 불소를 적용한 V군에서 가장 낮은 수치를 나타냈다. 각 실험군간의 비교에서는 불소나 레이저 단독 적용군(II, III군)에 비해서 복합 적용군(IV, V군)에서 더 낮은 수치를 나타냈다 (Table 6, Fig. 3).

Table 7은 각 군간 total culturable flora의 CFU/ml를 통계분석한 결과로서 실험군(I군)과 대조군(II-V군)간에 유의한 차이가 있었고 ($p < .05$), II군과 III군 III군과 IV군을 제외한 모든 군간에 통계학적으로 유의차가 있었다($p < .05$).

Streptococcus mutans의 경우 total culturable flora와 유사하게 대조군인 I군에서 가장 높은 수치를, 레이저 적용후 불소를 적용한 V군에서 가장 낮은 수치를 나타냈으며 각 실험군간의 비교에서는 불소나 레이저 단독 적용군(II, III군)에 비해서 복합 적용군(IV, V

Table 8. Inter-group comparison of colony forming units(CFU/ml) in Streptococcus mutans

	I	II	III	IV	V
I					
II	*				
III	*	*			
IV	*	*	-		
V	*	*	*	*	

* : Statistically significant difference ($p < .05$)

군)에서 더 낮은 수치를 나타냈다 (Table 6, Fig. 4).

Table 8은 각 군간 Streptococcus mutans의 CFU/ml를 통계분석한 결과로서 실험군(I군)과 대조군(II-V군)간에 유의한 차이가 있었고 ($p < .05$), III군과 IV군을 제외한 모든 군간에 통계학적으로 유의차가 있었다 ($p < .05$).

V. 총괄 및 고안

치아 우식증은 산에 의한 법랑질의 탈회현상으로 소아 및 청소년기에 가장 흔히 발생하는 구강질환중의 하나로 알려져 있으며 그 형성기전과 진행 또 예방 및 치료에 대해 오래전부터 다각도로 연구되어 왔다.

치아 우식증의 예방 및 치료법으로 불소제재의 사용, 우식억제 화합물의 사용, 치면세

균막 관리법, 식이조절법, 치면열구 전색제의 사용등 여러 방법들이 소개되어 왔고 이와 함께 근래에는 레이저에 의한 치아우식증의 예방과 치료분야에 대한 관심이 증가되어 많은 연구가 행해져왔다. 불소와 레이저의 이용은 건전치질뿐 아니라 이미 발생한 초기 우식증의 진행 억제와 치료영역에서도 관심사로 대두되어 왔다.

가장 널리 사용되어온 불소 이온은 그 화합물의 종류나 농도, 도포방법에 관계없이 내산성을 증가시켜 우식 이환율을 감소시키고 재석회화 과정을 촉진하는 능력을 가진 것으로 인정되고 있다. White 등⁴³⁾은 우식이 진행된 치질에 불소 처치시 내산성 증가를 불소가 반응할 수 있는 표면적이 증가되어 재광화가 촉진되고 이로 인해 미세공이 협소해져서 재탈회가 적게 일어나기 때문인 것으로 설명하였고 Jeansonne와 Feagin⁵⁷⁾, Geiger 등⁵⁸⁾은 초기 우식병소에 불소 적용시 법랑질 표면에 내산성이 강한 반응 산물이 형성되어 탈회에 저항성을 갖게된다고 하였다.

또 불소의 항우식 기전에 대해 Spinelli 등⁵⁹⁾은 수산화 인회석의 수산화기와 불소가 치환되어 더 안정성있는 결정구조를 갖는 불화 인회석을 형성하여 용해에 대한 저항성이 증가된다고 하였고 Tencate와 Duijsters^{60, 61)}는 법랑질 결정구조 표면에 불소이온이 흡착되어 용해도를 감소시킨다고 하였으며 Dijkman 등과 Ludwig 등^{62, 63)}은 불화인회석이나 불화칼슘이 침전되어 재광화가 일어난다고 하였다.

불소 화합물은 치아의 내산성 증가작용, 초기 우식 병소의 재석회화 촉진 작용과 같은 불소의 일반적인 효과외에도 구강내 상주균에 대한 증식 억제 효과가 있는 것으로 알려져 있다⁹⁾. 특히 치아우식증을 일으키는 대표적인 원인균인 *Streptococcus mutans*를 억제하는 효과가 있는 것으로 보고되고 있다¹⁰⁾.

Andres 등⁶⁴⁾, Loesche 등²⁶⁾, Tinanoff 등⁶⁵⁾, Yost 등⁶⁶⁾은 다양한 종류의 불소 제제에 의한 항균효과를 보고한 바 있다.

불소의 항균 효과는 치태내 세균의 대사변화^{67, 68)}, 치면 세균막 감소⁶⁹⁾, *Streptococcus mu-*

*tans*와 같은 우식유발 균주 감소⁷⁰⁾에 의해 나타나는 것으로 알려져 있다.

광전자학의 발달과 함께 개발된 여러 종류의 레이저는 임상의학 분야와 치의학 분야에서 그 응용기술이 실용화되어 치료분야가 확대되고 있다. 치의학 분야에서는 1964년 Goldman 등⁴¹⁾에 의해 처음으로 레이저 조사에 의한 우식병소의 제거 가능성을 보고한 이래로 Stern 등⁴⁰⁾도 루비레이저를 이용한 치아의 와동형성에 관해 보고한 바 있고, 그후 여러 학자들에 의해 레이저를 이용한 치아의 와동 형성에 관한 연구가 보고되었다.

또 Weichman 등⁷¹⁾은 레이저로 치근단공을 폐쇄시키는 근관치료를 시행하였고 Shoji 등⁷²⁾은 탄산가스 레이저를 이용하여 치수 절단술을, Goodis⁷³⁾는 Nd-YAG 레이저로 근관확대를 시도한 바 있다.

초기에는 레이저를 치아우식증 제거를 위한 와동 형성에 사용하려 하였으나 최근의 관심사는 와동형성보다는 레이저 조사에 의한 치아우식 예방분야와 초기 우식증의 치료분야이다. 1964년 Stern 등⁴⁰⁾이 레이저 조사에 의한 치질의 내산성 증가를 관찰한 이후로 Lobene 등⁷⁴⁾은 탄산가스 레이저 조사에 의한 내산성 증가를 보고하였고 Yamamoto와 Sato⁴³⁾, Morioka 등⁵⁶⁾이 각종 레이저를 치면에 조사하여 치질의 내산성 증가를 보고하였다. 국내에서도 김⁴⁴⁾과 이⁴⁶⁾등이 정상 법랑질과 우식 법랑질에서 탄산가스 레이저 조사에 의한 내산성 증가를 보고하였고, 이와 손⁷⁶⁾이 법랑질에서 정상 펄스형 Nd-YAG 레이저 조사에 의한 치질의 내산성 증가를 보고한 바 있다.

본 실험에서는 높은 투과성을 갖는 Yttrium Aluminum-Garnet과 레이저 발진을 일으키는 Neodymium을 이용한 정상 펄스형 Nd-YAG 레이저가 사용되었다. Yamamoto와 Sato⁴³⁾는 energy 소실없이 single flexible optical fiber로 유도되는 레이저 광선을 가지는 Nd-YAG 레이저가 구강내로의 접근이 쉽고 치료할 부위에 선택적으로 조사할 수 있어서 치과영역에서 이용이 용이하고 법랑질의 항우식효과를 높인다고 보고하였다. Morioka 등⁵⁶⁾은 정상펄스형

Nd-YAG 레이저가 Acousto-optically Q-switched Nd-YAG 레이저에 비해서 동일한 에너지 밀도에서 내산성이 높고 치면에 손상이 적고, 연속형 Nd-YAG 레이저에 비해서 열발생량이 적고 용융과 재결정화가 와동형성없이 법랑질 표층에만 국한되기 때문에 임상용으로 더 적합하다고 하였다.

레이저 조사시 치면의 내산성 증가 기전은 치면의 온도상승에 의한 물리화학적 성상 변화에 의한 것으로 알려져 있고 이의 정확한 기전에 대해서는 아직도 학자들간에 다소 논란의 대상이 되고 있다.

레이저 조사에 의한 법랑질의 내산성 증가 기전들을 살펴보면 레이저 조사에 의한 법랑질 조성의 변화로 유기성분, 수분 등의 감소가 나타나고 이로 인해 산용해에 대한 수산화 인회석의 저항성을 증가시킨다는 기전과 레이저 조사로 불소, 인, 칼슘 등이 법랑질과의 친화력이 증가되어 산용해에 대한 저항성을 증가시킨다는 기전, 법랑질 표면에 생긴 미세공 사이에 불소, 인, 칼슘이 침착되어 산용해에 대한 저항성을 증가시킨다는 기전, 그리고 레이저 조사로 법랑질 표면의 작은 법랑질 결정이 용융되어 융합해서 산과의 총접촉 면적을 감소시킨다는 기전, 레이저 조사로 치아표면이 살균되어 법랑질 표층의 치태를 감소시킨다는 기전 등이 있다.^{42, 43, 48, 52, 72)}

레이저 조사에 의한 치질의 내산성 증가 기전들은 크게 치아의 물리적 성상변화와 화학적 성분 변화에 의한 투과도 감소와 용해도 감소로 볼 수 있다. Stern 등⁷⁷⁾은 산을 침투시키는 통로인 법랑질 표면의 미세공이 레이저 조사에 의한 표면 융합으로 통로가 협소하게 되어 투과도가 감소된다고 하였고 Yamamoto 등⁷⁸⁾은 법랑질 표층 유기물질의 용해에 의한 미세공 폐쇄와 법랑질 결정구조의 변화로 법랑질 투과도가 감소되어 세균 부착과 산의 침투가 어렵게 된다고 하였다.

반면 Oho와 Morioka⁵²⁾는 레이저 조사로 치질의 lattice strain이 감소되고 탄산염등이 소실되어 용해도가 감소한다고 하였고 Fowler와 Kuroda 등⁷⁹⁾은 100-650°C로 레이저 조사시 발

생된 열에 의해 수산화인회석이 변형되어 calcium-pyrophosphate와 같이 변형된 상이 형성되고 이러한 내산성이 높은 새로운 상의 형성으로 용해도가 감소한다고 하였으며 1100°C 이상의 고열로 과도하게 레이저 조사시에는 오히려 용해도가 증가한다고 하였다.

최근에는 레이저와 불소의 복합 사용으로 새롭고, 효과적인 우식예방 효과가 연구되었고 법랑질에 레이저 조사시 법랑질 구조변화로 우식저항도의 증가와 불소 흡인량이 증가 되는 것이 입증되었다. Goodman과 Kaufman⁴²⁾은 불화 나트륨 존재하에서 아르곤 레이저를 조사하였을 때 불소흡수 증가와 산성 용액에서의 용해율 감소를, Yamamoto와 Sato⁴³⁾는 Ag(NH₃)₂F를 적용한 후에 정상 펄스형 Nd-YAG 레이저를 법랑질에 조사하여 불소흡수 증가와 탈회 감소를 보고하였다. 또한 Hick 등⁵¹⁾은 병소형성에 앞서 APF 도포후 아르곤 레이저의 조사시 우식 예방 효과가 두드러지게 나타난다고 하였다. 이러한 연구들은 법랑질에 대한 레이저 조사로 치아우식 예방, 저석회화된 법랑질과 초기 우식병소 치료 등 임상적 적용 가능성을 제시해 주었다.

본 실험에서도 불소와 레이저를 복합 사용한 군(IV, V 군)에서 내산성 및 항균 효과가 불소나 레이저를 단독으로 적용한 군(II, III 군)에 비해서 크게 나타났다. 단독 적용군간 비교시는 불소에 비해 레이저가, 복합 적용군간 비교시는 레이저 후 불소를 적용한 군(V 군)에서 내산성 및 항균 효과가 크게 나타났다. 이는 레이저에 의한 법랑질의 물리화학적 성상의 변화로 칼슘과 인의 용출, 미생물의 부착과 성장을 억제하고, 불소 도포시 칼슘, 인등과 결합할 수 있는 불소량이 증가로 내산성 및 항균 효과의 상승작용이 더 크게 나타난 것으로 추정된다.

법랑질의 탈회와 재석회화에 관한 연구는 대부분 인공적으로 형성된 법랑질 우식병소를 대상으로 진행되고 있다. 이는 자연 우식병소가 구조의 변이가 다양하고 우식병소가 비교적 좁아서 실험대상으로 적합하지 못하기 때문이다. 치아우식 예방에 대한 관심이 증대되면서 자연 병소와 유사하며 재현성이 높은 인공 우

VI. 결 론

식병소를 유발시키기 위한 여러 가지 방법들이 고안되었다. Lactate buffer내에 hydroxyethyl cellulose나 methylcellulose등을 첨가하는 acidified gel system이 개발되어 인공 우식병소 유발에 널리 사용되었는데 특히 hydroxyethyl cellulose system은 비교적 건전한 표층과 탈회(脫珪)가 심하게 진행되는 표층하부 병소로 구성되는 법랑질 초기 우식병소의 재현이 용이하고 표층 법랑질의 광물질 함량과 두께가 자연 병소와 매우 유사하며, 법랑질 외형에 평행하고 거의 균일한 깊이를 가진 병소를 유발시키므로 동일 조건하에서의 재현성이 높다고 보고되어 있다⁷⁹⁾.

우식 억제 효과에 관한 연구는 우식 법랑질의 용해에 의한 광물질 소실의 화학적 분석법, microradiograph나 편광 현미경을 이용하여 병소의 깊이와 양상을 관찰하는 방법, 그리고 표층의 미세경도를 측정하는 방법 등이 다양하게 시행되어왔다. 본 실험에서는 hydroxyethyl cellulose system을 사용하여 우식을 유발시킨 후 화학적 정량분석으로 내산성을 비교 분석하였으며, 레이저의 항균 효과를 함께 비교해 보고자 하였다.

법랑질에 대한 레이저 조사와 불소처리 병행은 항균 및 내산성의 상승작용을 일으키는 것으로 추정된다. 레이저 조사와 불소처리 병행요법은 치아 우식의 예방과 현존하는 저광화 법랑질과 백반상의 초기 우식병소의 치료에 임상적 의의가 있으며 초기 법랑질 우식증에 레이저 조사 전후에 불소도포를 하는 것은 우식 진행과정을 정지시키는 수단이 될 수 있을 것이다.

이 실험의 결과에서 불소와 레이저 적용에 의한 내산성 및 항균성 증가 효과가 재입증되었고 불소와 레이저의 복합적용이 이와 같은 효과를 더욱 상승시킨 결과는 증가된 본 연구 결과는 불소와 레이저의 임상 적용시 충분히 고려되어야 할 것으로 판단된다. 향후 다양한 실험 조건과 재료를 대상으로 이 분야에 대한 지속적인 연구와 임상적 연구를 통하여 레이저와 불소의 내산성 증진효과와 항균효과를 확인 해보는 것이 필요하리라 사료된다.

본 연구는 레이저 조사후 불소 적용시 항우식효과와 항균효과를 평가하기 위해 인공우식 법랑질의 화학적 정량분석과 증균시킨 미생물의 CFU/ml를 측정하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 항우식 효과에 관한 연구결과

총 50개의 치아절편을 대상으로 KOH(1M) 용액에 의해 용출된 칼슘과 인의 양을 정량분석한 결과 대조군인 I군에서 칼슘과 인이 가장 많이 용출되었고 레이저 조사후 불소를 적용한 V군에서 가장 적게 용출되어 가장 큰 내산성을 나타냈다. 대조군(I군)과 실험군(II-V군)간의 비교에서는 대조군이 높은 수치를 나타냈으며 실험군간의 비교에서는 레이저나 불소를 단독 적용한 군(II, III군)에 비해 레이저와 불소를 복합 적용한 군(IV, V군)에서 더 낮은 수치를 나타냈다.

2. 항균효과에 관한 연구결과

총 50개의 치아절편을 대상으로 CFU/ml를 측정한 결과 대조군인 I군에서 Total culturable flora와 Streptococcus mutans가 가장 많이 증균되었고 레이저 조사후 불소를 적용한 V군에서 가장 적게 증균되어 가장 큰 항균 효과를 나타냈다. 대조군(I군)과 실험군(II-V군)간의 비교에서는 대조군이 높은 수치를 나타냈으며 실험군간의 비교에서는 레이저나 불소를 단독 적용한 군(II, III군)에 비해 레이저와 불소를 복합 적용한 군(IV, V군)에서 더 낮은 수치를 나타냈다.

3. 불소와 레이저 적용에 의한 초기우식병소의 내산성 및 항균성 증가효과가 본 연구를 통해 재입증되었으며 불소와 레이저의 복합적용이 이와같은 효과를 더욱 상승시킨 결과는 우식예방을 위한 레이저의 임상 적용시 충분히 고려되어야 할 것으로 사료된다.

참 고 문 헌

1. Silverstone L.M. : Laboratory studies on the demineralization and remineralization of human enamel in relation to caries mechanisms, *Austrian Dental Journal*, 25(3) : 163-168, 1980
2. Tencate J.R. : Remineralization of artificial lesions in vitro, *Caries Res.*, 11 : 277-286, 1977.
3. Gelhard T.B.F.M. : Rehardening of artificial enamel lesion in vivo, *Caries Res.*, 13 : 80-83, 1979.
4. Mellberg J.R. : Remineralization in vivo of artificial caries lesions by monofluorophosphate dentifrice, *Caries Res.*, 19 : 126-135, 1985.
5. Brudevold F. : A pilot study of the relationship between caries experience and surface enamel fluoride in man, *Archs. Oral Biol.*, 20 : 859-864, 1975.
6. Tveit A.B. : Fluoride uptake by dentin surfaces following topical application of TiF_4 , NaF and fluoride varnishes in vivo, *Caries Res.*, 19 : 240-247, 1985.
7. Clarkson B.H. : Redistribution of enamel fluoride during white spot lesion formation : an in vitro study on human dental enamel, *Caries Res.*, 15 : 158-165, 1981.
8. Bruun C. : Loosely bound fluoride extracted from natural carious lesions after topical application of APF in Vitro, *Caries Res.*, 18 : 458-460, 1983.
9. Tinanoff N., Weeks D.B. : Current status of SnF₂ as an antiplaque agent, *Pediatric Dent.*, 1 : 199-204, 1979.
10. Svanberg M., Westergren G. : *Streptococcus mutans* in plaque and saliva after mouthrinsing with SnF₂, *Scand. J. Dent. Res.*, 90 : 292-298, 1982.
11. Maltz M., and Emilson C.G. : Susceptibility of oral bacteria to various fluoride salts, *J. Dent. Res.*, 61(6) : 786-790, 1982.
12. Maiman T.H. : Stimulated optical radiation in ruby, *Nature*. 187 : 493-494, 1960.
13. Blankenau, R.J., Kelsey, W.P., Powell, G.L., Cavel, W.T. and Anderson, D.M. : Power density and external temperature of laser-treated root canals, *J. Clin. Laser Med. and Sur.*, 12(1) : 17-19, 1994.
14. Featherstone, J.D.B. and Nelson, D.G.A. : laser effects on dental hard tissues, *Adv. Dent. Res.*, 1 : 21-26, 1987
15. Powell, G.L., Kelsey, W.P., Blankenau, R.J. and Barkmeier, W.W. : The use of an argon laser for polymerization of composite resin, *Esthetic Dentistry*, 78-81, 1989.
16. Hicks, M.J., Flaitz, C.M., Westerman, G.H., Blankenau, R.J., Powell, G.L. and Berg, J.H. : Caries-like lesion initiation and progression around laser-cured sealants, *Am. J. Dent.*, 6(4) : 176-179, 1993.
17. Wheeland, R.G. : Basic laser physics and visible light laser surgery : Special surgical procedures. 1008-1016.
18. Rolla G. : Effects of the tooth surface of teeth showing dental fluorosis as observed by shadowed replicas, *Odont. Revy.*, 11 : 243-261, 1977.
19. Svatun B, Gjermo P, Eriksen H.M. and Rolla G.A. : A comparison of the plaque-inhibiting effect of stannous fluoride and chlorhexidine, *Acta. Odontol. Scand.*, 35 : 247-250, 1977.
20. Hamilton I.R. : Effects of fluoride on enzymatic regulation of bacterial carbohydrate metabolism. : In *Cariostatic mechanisms of fluoride*, *Caries Res.*, 11; 262-291, 1977.
21. Hamilton I.R. and Ellwood D.C. : Effects of fluoride on carbohydrate metabolism by washed cells of *Streptococcus mutans* growth at various pH values in chemostat, *Infect Immun*, 19 : 434-442, 1978.
22. Yost K.G. and Van Demark P.J. : Growth

- Inhibition of streptococcus mutans and leuconostoc mesenteroides by sodium fluoride and ionic tin, *Appl. Environ. Microbiol.*, 920–924, 1978.
23. Eisenberg A.D, Bender G.R, and Marquis R.E. : Reduction in the aciduric properties of the oral bacterium streptococcus mutans GS-5 by fluoride, *Arch Oral Biol.*, 133–135, 1980.
 24. Wood R. : The short-term effect of topical fluoride applications on the concentration of streptococcus mutans in dental plaque, *Aust. Dent. J.*, 16 : 152–155, 1971.
 25. Loesche W.J., Murray R.J. and Mellberg J.R. : The effect of topical acidulated fluoride on the percentage of streptococcus mutans and streptococcus sanguis in interproximal plaque samples. *Caries Res.* 7 : 283–296, 1973.
 26. Loesche W.J., Syed S.A., Murray R.J. and Mellberg J.R. Effect of topical acidulated phosphate fluoride on the percentage of streptococcus mutans and streptococcus sanguis in plaque. *Caries Res.*, 9 : 139–155, 1975.
 27. Yoon, N.A. and Berry, C.W. : An in vivo study of the effects of fluoride (SnF₂ 0.4 %, APF 1.23 %, and neutral NaF 0.05 %) on levels of organisms resembling actinomyces, gingival inflammation and plaque accumulation, *J. Dent. Res.*, 58 : 535–536, 1979.
 28. Featherstone J.D.B. : Remineralization of artificial caries-like lesions in vivo by self-administered mouthrinse or paste. *Caries Res.*, 16 : 235–242, 1982.
 29. Zimmermann M.B. : Intraoral uptake of fluoride by presoftened enamel following systemic administration and fluoride mouthrinsing, *Caries Res.*, 19 : 255–261, 1985.
 30. Silverstone, L.M. Dynamic factors affecting lesion initiation and progression in human dental enamel : Part I. The dynamic nature of enamel caries, *Quintessence International*, 19 : 683–711, 1988.
 31. Featherstone J.D.B., Glean R., Shariati M. and Shields C.P. : Dependence of vitro demineralization of apatite and remineralization of dental enamel on fluoride concentration, *J. Dent. Res.*, 69 : 620–625, 1990.
 32. Ogaard B., Rolla G. and Helgeland K. : Fluoride retention in sound and demineralized enamel in vivo after treatment with a fluoride varnish (Duraphat), *Scand. J. Dent. Res.*, 92 : 190–197, 1984.
 33. White D.J. and Nancollas G.H. : Physical and chemical considerations of the role of firmly and loosely bound fluoride in caries prevention, *J. Dent. Res.*, 69 : 587–594, 1990.
 34. Seppa L. : Fluoride content of enamel during treatment and 2 years after discontinuation of treatment with fluoride varnishes, *Caries Res.*, 18 : 278–281, 1984.
 35. Brudevold F., Savory A., Gardner D.E., Spinelli M. and Spiers R. : A study of acidulated fluoride solutions : In vitro effects on enamel, *Archs oral Biol.*, 8 : 167–177, 1963.
 36. DeShazer D.O. and Swartz C.J. : The formation of calcium fluoride on the surface of hydroxyapatite after treatment with acidic fluoride-phosphate solution, *Arch Oral Biol.*, 12 : 1071–1075, 1967.
 37. Ogaard B. : Effects of fluoride on caries development and progression in vivo, *J. Dent. Res.*, 69 : 813–819, 1990.
 38. Saxegaard F. and Rolla G. : Dissolution of calcium fluoride in human saliva, *Acta Odontol. Scand.*, 46 : 355–359, 1988.
 39. Rolla G. and Saxegaard E. : Critical evaluation of the composition and use of topi-

- cal fluorides with emphasis on the role of calcium fluoride in caries inhibition, *J. Dent. Res.*, 69 : 780-785, 1990.
40. Stern, R.H. and Sognnaes, R.F. : Laser beam effect on dental hardtissues, *J. Dent. Res.*, 43(5) : 873, Abstract 307, 1964.
 41. Goldman, L., Gray, J.A., Goldman, B. and Meyer, R. : Effect of laserbeam impacts on teeth, *J. Am. Dent. Assn.*, 70 : 601-606, 1965.
 42. Goodman, B.D., Kaufman, W. : Effects of an argon laser on the crystalline properties and rate of dissolution in acid of tooth enamel in the presence of sodium, *J. Dent. Res.*, 56(10) : 1201-1207, 1977.
 43. Yamamoto, H., Sato, K. : Prevention of dental caries by Nd : YAG laser irradiation, *J. Dent. Res.*, 59(2) : 2171-2177, 1980.
 44. 김순주 : 탄산가스 레이저 조사가 법랑질의 내산성 변화에 미치는 영향에 관한 실험적 연구, 대한 소아치과 학회지, 12(1) : 9-20, 1985.
 45. 손동수, 민신흥 : Nd-YAG 레이저 조사가 불화석 국소도포에 미치는 효과에 관한 실험적 연구, 대한 소아치과 학회지, 14(1) : 159-171, 1987.
 46. 이상호, 이종갑 : 레이저 조사의 치아우식 억제효과에 관한 실험적 연구, 대한 소아치과 학회지, 18(2) : 1-15, 1991.
 47. Hicks, M.J., Flaitz, C.M., Westerman, G.H., Berg, J.H., Blankenau, R.L. and Powell, G. L. : Caries-like lesion initiation and progression in sound enamel following argon laser irradiation : An in vivo study, *J. Dent. Child*, 201-206, 1993.
 48. Hicks, M.J., Flaitz, C.M., Westerman, G.H., Blankenau, R.J., Powell, G.L. and Berg, J.H. : Caries-like lesion initiation and progression around laser-cured sealants, *Am. J. Dent* 6(4) 76-179, 1993.
 49. Westerman, G.H., Hicks, M.J., Flaitz, C.M., Blankenau, R.J., Powell, G.L. and Berg, J.H. : Argon laser irradiation in root surface caries : In vitro study examines laser's effects. *J.A.D.A.*, 125 : 401-405, 1994
 50. Flaitz, C.M., Hicks, M.J., Westerman, G.H., Berg, J.H., Blankenau, R.J. and Powell, G. L. : Argon laser irradiation and acidulated phosphate fluoride treatment in caries-like lesion formation in enamel : An in vitro study, *Pedia. Dent.*, 17(1) : 31-35, 1995.
 51. Hicks, M.J., Flaitz, C.M., Westerman, G.H., Blankenau, R.J., Powell, G.L. and Berg, J.H. : Enamel caries initiation and progression following low fluence argon laser and fluoride treatment, *J. Clin. Pediatr. Dent.*, 20 : 9-13, 1995
 52. Oho, T., Morioka, T. : A possible mechanism of acquired acidresistance of human dental enamel by laser irradiation, *Caries Res.*, 24 : 86-92, 1990.
 53. Klein E.S., Fine J., Ambrus E., Cohen E., Neter C., Ambrus T., Bardos R. : Interaction of laser radiation with biologic system III. : Studies on biologic systems in vitro. *Fed. Proc. Am. Soc. Exp. Biol.*, 24(1) : 104-110, 1965.
 54. McGuff P.E., and Bell E.J. : The effect of laser energy radiation on bacteria. *Med. Biol. Illus.* 191-193.
 55. Zakariasen K.L., Dederich D.N., Tulip J., DeCoste S., Jensen S., Pickard M : Bactericidal action of carbon dioxide laser radiation in experimental dental root canals, *Can. J. Microbiol.*, 32 : 942-946, 1986.
 56. Morioka, E., Suzuki, K., Morioka, T. : An increment of acid resistance of dental enamel with the irradiation of various type of laser beam (3rd ed.), *J. Jap. Soc. Laser Med.*, 3 : 619-624, 1982
 57. Jeansonne, B.G. and Feagin, F. : Fluoride action on acid resistance of unaltered human surface enamel, *J. Oral Pathol.*, 8 :

- 207-212, 1979.
58. Geiger, A.M., Gorelick, L., Gwinnet, A.J. and Benson B.J. : Reducing white spot lesions in orthodontic populations with fluoride rinsing, *Am. J. Orthod. Dentofac. Orthop.*, 101 : 403-407, 1992.
 59. Spinelli, M., Brudevold, F. and Moreno, E.C. : Mechanism of fluoride uptake in hydroxyapatite, *Arch. Oral. Biol.*, 16 : 187-203, 1971.
 60. Tencate, J.M. and Duijsters, P.P.E. : Alternating demineralization and remineralization of artificial enamel lesions, *Caries Res.*, 16 : 201-210, 1982.
 61. Tencate, J.M. and Duijsters, P.P.E. : The influence of fluoride insolubility on tooth demineralization, *Caries Res.*, 17 : 193-199, 1983.
 62. Dijkman, A.G., Tak, J. Arends, J. : Fluoride deposited by topical applications in enamel, *Caries Res.*, 16 : 147-155, 1982.
 63. Ludwig, A., Dave, S. C., Higuchi, W.L. and Fox J.L. : Influence of fluoride ions on the dissolution kinetics of apatite powders, *J. Pharm. Belg.*, 37 : 141-149, 1982.
 64. Andres, C.J., Schaeffer, J.C., and Windeler, A.S. : Comparison of antibacterial properties of stannous fluoride and sodium fluoride mouthwashes, *J. Dent. Res.*, 53 : 457-460, 1974.
 65. Tinanoff, N., Brady, J.M., Gross, A. : The effect of NaF and SnF₂ mouthrinses on bacterial colonization of tooth enamel. TEM and SEM studies, *Caries Res.*, 10 : 415-426, 1976.
 66. Yost, K.G and Van Demark, P.J. : Growth inhibition of streptococcus mutans and leuconostoc mesenteroides by sodium fluoride and ionic tin, *Appl. Environ. Microbiol.*, 35 : 920-924, 1978.
 67. Woolley, L.H. and Rickles, N.H. : Inhibition of acidogenesis in human dental plaque in situ following the use of topical sodium fluoride, *Arch. Oral Biol.*, 16 : 1187-1194, 1971.
 68. Sandham, H.J. and Kleinberg, I. : Effect of fluoride on carbon dioxide and acid formation in salivary sediment mixtures incubated with glucose, *Arch. oral Biol*, 18 : 211-216, 1973.
 69. Birkeland, J. M. : Effect of fluoride on the amount of dental plaque in children, *Scand. J. Dent. Res.*, 80 : 82-84, 1972.
 70. Woods, R. : The short-term effect of topical fluoride applications on the concentration of Streptococcus mutans in dental plaque. *Aust. Dent. J.*, 16 : 152-155, 1971.
 71. Weichman, J.A., Johnson, F.M., and Nitta, L.K. : Laser use in endodontics, *Oral Surg.*, 34(5) : 828-830, 1972.
 72. Shoji, S., Nakamura, M., Horiushi, H. : Histopathological changes in dental pulps irradiated by CO₂ laser : A preliminary report on laser pulpotomy, *J. Endo.*, 11(9) : 379-384, 1985.
 73. Goodis, H.E., White, J.M., and Marshall, G. W. : Scanning electron microscopic examination of intracanal wall dentin : Hand versus laser treatment, *Scanning Microscopy.*, 7(3) : 979-987, 1993.
 74. Lobene, R.R. and Fine, S. : Interaction of laser radiation with oral hard tissues. *J. Prosthet. Dent.* 16 : 5819, 1966.
 75. 이영순, 손홍규 : 펄스형 Nd-YAG 레이저 조사에 의한 법랑질 내산성 증가 기전에 관한 연구, *대한 소아치과 학회지*, 23(3) : 640-658, 1996.
 76. Stern, R.H. : Lased enamel : Ultrastructural observations of pulsed carbon dioxide laser effects, *J. Dent. Res.*, 51 : 455, 1972.
 77. Yamamoto, H. : YAG Laser effect for acid resistance on tooth enamel, *J. Dent. Res.*, 53 : 1093, 1974.

78. Fowler, B.O. and Kuroda, S. : Changes in heated and in laser irradiated human tooth enamel and their probable effects on solubility, *Calcific. Tissue Int.*, 38 : 197–208, 1986.
79. Groeneveld, A., Arends, J. : Influence of pH and demineralization time on mineral content, Thickness of surface layer and depth of artificial caries, *Caries Res.*, 9 : 36–44, 1975.