

## 불소적용시 법랑질과 상아질에서 불화칼슘형성의 차이에 관한 실험적 연구

전북대학교 치과대학 소아치과학교실 및 치의학연구소

김재곤, 권선자, 윤현두, 안수현, 백병주

### Abstract

#### DIFFERENCE OF CALCIUM FLUORIDE FORMATION BETWEEN THE ENAMEL AND DENTIN AFTER FLUORIDE APPLICATION IN VITRO

Jae-Gon Kim, D.D.S.,Ph.D., Seon-Ja Kweon, D.D.S.,Ph.D., Hyun-Du Yun, D.D.S.,M.S.D.,  
Soo-Hyeon An, D.D.S.,M.S.D., Byeong-Ju Baik, D.D.S.,Ph.D

*Department of Pediatric Dentistry and Institute of Dental Science,  
School of Dentistry, Chonbuk National University*

The purpose of this study was to compare the amount of calcium fluoride deposited on the enamel and dentin surface and to obtain information on the morphological change and crystallographic details of mineral deposition after 12,000ppm APF application in vitro.

The bovine enamel and dentin blocks were randomly assigned to eight groups according to artificial caries lesion formation and difference of fluoride application time. The fluoride concentration and morphological characteristics on the treated enamel and dentin surface were investigated by using fluoride quantitative analysis and SEM. The powdered enamel and dentin of the intact bovine incisors were prepared for the X-ray diffraction analysis.

The following results were obtained.

1. The amounts of KOH-soluble fluoride on the carious enamel and dentin surface after 24h APF application were higher than after only 5min APF application( $P<0.05$ ), but in the case of the sound enamel and dentin surface were similar after 5min and 24h application ( $P>0.05$ ). The fluoride content was highly increased in the carious dentin as compared with sound dentin after APF application( $P<0.05$ ).

2. The carious enamel surface after APF application, the demineralized enamel surface were recovered a more dense enamel surface and precipitation of crystal was observed a distinctive surface layer of spherical globules of about 1 μm diameter. In the case of the fluoridated carious dentin surface, precipitation of calcium fluoride-like material was deposited both inside the dentinal tubules as well as in the intertubular regions.
3. The crystallographic structure of powdered enamel and dentin after 24h APF application had large crystallinities of apatite and CaF<sub>2</sub> diffraction peaks in the enamel as compared with dentin. The diffraction data collected from the 27.50-29.50(2) angular range of the powdered enamel, the (105) apatite, (225) apatite and (111) CaF<sub>2</sub> peaks of the enamel crystallinities were detected after 24h APF application.

## I. 서 론

많은 역학 및 실험적 연구를 통하여 불소는 치아우식증의 예방을 위한 가장 효과적인 약제로서 알려져 있는 바<sup>1)</sup>, 불소가 치아의 무기질에 함유됨으로서 치아경조직의 대부분을 구성하고 있는 무기질의 용해성을 감소시키므로 치아형성시 불소를 투여하는 것이 그 효과를 극대화 할 수 있으며, 이에 따라 상수도수 불화사업 등의 전신적 불소투여에 관한 중요성이 강조되었다.

그러나 탄산염 불화인회석(carbonated fluorapatite)으로 구성된 상어의 법랑질에서도 우식병소가 발생되었음은 불소의 항우식효과는 불소농도나 타액 등과 같이 치아면에 인접한 구강환경이 중요하고, 우식병소의 발생이 탈회라는 일방적인 우식과정만으로 진행되기 보다는 무기질의 소실과 획득이라는 과정이 반복되다가 어느 한 과정의 불균형으로 인한 결과에 따라 탈회 또는 재석회화가 이루어진다는 초기 우식발생에 관한 새로운 인식이 확산되었으며, 이에 따라 이미 맹출된 치아경조직에 대한 불소의 국소도포에 관한 관심이 증대되고 있다<sup>2-5)</sup>.

최근 불소처치에 관한 많은 연구들은 불소의 항우식 작용기전으로서 산생성과 산화감소, 무기질인 인회석의 평형-용해도 감소, 인회석 결정면의 불소화에 따른 용해율 감소 등에 근거하며, 치아경조직의 대부분을 구성하고 있는 무기질인 수산화인회석(hydroxyapatite)에 강한 친화력이 있는 불소가 적용되면 결정격자내로 합입되거나 결정면에 결합되는 양상을 나타내는데, 이는 적용되는 불소

제의 농도, 산도 및 유형 등에 영향을 받는다<sup>6-9)</sup>.

Gerould<sup>10)</sup>에 의해 고농도의 불소가 법랑질표면에 적용되면 주 반응산물로서 불화칼슘(CaF<sub>2</sub>)이 형성되어 산의 공격에 대한 저항성을 나타냄이 보고된 이래, 법랑질에 형성된 불소화합물인 불화칼슘(CaF<sub>2</sub>)이 항 후 우식공격을 차단하여 항우식효과를 가진다는 연구자들의 주장과 수용성인 불화칼슘이 타액에서 빠른 소실을 나타내므로 불화인회석(fluorapatite)만이 임상적으로 유용하다는 연구자들 사이에서 불화칼슘의 항우식효과에 관한 논란이 계속되어 왔다<sup>11-13)</sup>.

근래에 이르러 불화칼슘에 대한 관심이 다시 증가되면서 Fejerskov 등<sup>14)</sup>은 탈회법랑질에 형성된 불화칼슘이 구강내의 타액에 불소를 유리, 즉 불소 저장고로서의 역할때문에 임상적으로 유용함을 주장하였고, Øgaard 등<sup>15)</sup>은 2% NaF용액을 1회도포만으로도 구강내에서 2주정도 치아에 잔존하고 탈회 법랑질표면에서 정상 법랑질표면보다 더욱 긴밀한 결합이 이루어진다고 하였으며, Rølla 등<sup>16)</sup>은 타액내 존재하는 인산기와 함께 알부민과 같은 단백질이 불화칼슘의 용해성을 낮춘다고 보고한 바 있다.

한편 상아질을 대상으로 불소도포를 시행, 항우식효과를 비교한 연구는 법랑질에 비해 부족한 실정으로서 일부 상아질의 재석회화에 관한 연구가 진행되었으나 그 기전 및 역할 등에 관하여 명확히 규명되어 있지 않다<sup>17,18)</sup>.

Arends 등<sup>19)</sup>은 상아질은 법랑질에 비해 무기질의 구성, 미세구조 그리고 생리적 측면에서 매우 다른 성질을 가졌으며, 불소적용시 상아질표면 뿐

만 아니라 상아세관 내부 그리고 세관간 상아질부 위에도 불소화합물이 침착됨을 보고하였고, Featherstone 등<sup>20)</sup>은 실험고안, 측정방법 그리고 시편의 보관 등의 많은 요인들이 이에 영향을 미치며, 상아질에 대한 불소화합물의 형성 및 항우식효과에 관한 더 많은 연구가 필요함을 언급하였다.

그러나 치아경조직에 불소적용시 사용된 불소제의 유형, 농도, 산도 그리고 적용시간 등의 투여조건과 탈회여부, 법랑질과 상아질의 구성성분 및 형태적 차이 등의 치아 숙주요인에 따른 불화칼슘의 형태, 반응기전 그리고 안정성 등에 관하여 여전히 많은 의문점들이 남아있다.

이에 저자는 건전 및 우식 법랑질과 상아질을 대상으로 5분 및 24시간 불소적용을 시행한 후 불소이온 분석기, 주사전자현미경, EDX분석 및 X선 회절분석기를 사용하여 치아경조직의 종류, 탈회여부 그리고 적용시간 등의 차이에 따른 불화칼슘의 미세형태, 정량분석 및 결정구조 양상을 비교, 분석하고자 본 연구를 시행하였다.

## II. 실험재료 및 방법

### 1. 실험재료

#### 1) 시편제작

변색이나 미세파절이 없이 건전한 한우의 중절치를 대상으로 법랑질 표면의 이물질을 제거한 후 냉장보관하였다.

법랑질시편의 제작을 위하여 불소를 함유하지 않은 Pumice 사용 후 carborundum paper (#320-600)

로 연마하여 최외층 법랑질 100 $\mu$ m정도가 삭제되도록 하였으며, 상아질시편은 고속 핸드피스를 사용하여 상아질-법랑질 경계부까지 법랑질을 제거, carborundum paper (#320-600)로 연마하여 상아질 최외층면을 노출시켰다.

불소가 적용될 각 법랑질 및 상아질시편의 평활면이 약 4 $\times$ 4mm 노출되도록 nail varnish를 사용, 도포하였다.

#### 2) 우식병소의 형성

시편의 탈회를 위하여 노출된 법랑질 및 상아질면에 사용된 인공우식액은 Lactic acid gel system 으로서 0.1M lactic acid(Sigma Chem. Co.)와 6wt% hydroxyethyl cellulose(HEC, Aldrich Chem. Co.)로 구성되었고, 5% NaOH로 pH meter를 사용하여 pH 4.0으로 조절, 37 $^{\circ}$ C 항온조에서 5일간 매일 우식액을 교환하여 탈회하였으며, 이 후 증류수를 사용하여 세척, 실내건조하였다.

#### 3) 불소적용

준비된 각 시편을 무작위로 추출하여 법랑질 및 상아질의 종류, 우식병소 형성여부 및 적용시간의 차이에 따라 8개군으로 분류하였다(Table 1).

사용된 불소용액은 12,000ppm acidulate phosphate fluoride(APF, 2% NaF, 0.3% Hydrofluoric acid, 0.1M Orthophosphoric acid, pH 3.2)이며, 실온에서 5분 및 24시간 적용하였다.

### 2. 실험방법

#### 1) 불소이온 측정

각 군의 법랑질 및 상아질 노출면에서 형성된 불화칼슘의 정량분석을 위하여 Caslavaska 등<sup>21)</sup>이 고

Table 1. Experimental setup used in this study

Code	Procedure and treated condition
SEA	Sound enamel, 5min 12,000ppm APF application
SEB	Sound enamel, 24h 12,000ppm APF application
CEA	Cariou enamel, 5min 12,000ppm APF application
CEB	Cariou enamel, 24h 12,000ppm APF application
SDA	Sound dentin, 5min 12,000ppm APF application
SDB	Sound dentin, 24h 12,000ppm APF application
CDA	Cariou dentin, 5min 12,000ppm APF application
CDB	Cariou dentin, 24h 12,000ppm APF application

안한 방법에 따라 3ml 1mol/l KOH용액을 폴리에틸렌병에 넣어 실온에서 24시간 동안 보관하여 시편의 불소를 제거하였으며, 이를 3ml 1mol/l HNO<sub>3</sub>으로 중화하고 3ml 1mol/l trisodium citrate로서 완충하였다.

완충된 KOH용액에 TISAB III를 가한 후 불소이온분석기와 함께 Fluoride-ion electrode(Orion, Model 920A)를 사용하여 불소를 측정하였으며, 각 군의 불소 측정결과를 다중비교법을 통하여 통계적 분석을 시행하였다.

### 2) 주사전자현미경(SEM) 관찰

법랑질 및 상아질표면에 형성된 불화칼슘의 미세구조 및 형태변화를 관찰하고자, 불소적용 후 실내건조시킨 각 시편의 처리면에 금피복을 시행하였으며, 가속전압 10kV, 시편전류 4mA 조건 하에서 주사전자현미경(JEOL, JSM 6400)을 통하여 관찰하였다.

### 3) X-선 회절분석

불소처리 후 각 법랑질과 상아질의 불소화합물의 결정구조를 분석하기 위하여 증절치 순면 상아법랑질 경계부에서 Carbide bur로 법랑질과 상아질블럭을 완전히 분리한 후, Ball mill에 곱게 갈아 미세여과기에 걸러 40 $\mu$ m정도 균일한 미세입자를 가진 법랑질 및 상아질분말을 제작하였다.

이 후 Manly 등<sup>20)</sup>이 고안한 방법에 따라 분리된 법랑질 및 상아질분말을 12,000ppm APF용액, 10ml가 담겨진 폴리에틸렌병에 각각 5분 및 24시간동안 분당 100회 회전하여 불소를 적용하였으며,

증류수 세척 후 상온에서 건조시켰다.

불소적용여부 및 적용시간에 따라 건전 또는 불소처리 법랑질 및 상아질분말로 분류하고, 각 분말을 유리 slide에 도포한 후 X-선 회절분석(MAC, Material Analysis and Characterization, Model MO3XHF)를 사용하여 법랑질과 상아질의 종류 및 적용시간의 차이에 따른 각 시편의 반응산물의 결정구조를 분석하고자 하였으며, 실험조건은 45kV, 20mA하에서 CuK $\alpha$  radiation( $\lambda$ =1.54050 Å)을 조사하였다.

## III. 실험 결과

### 1. 불소의 분석

건전 또는 우식병소형성 및 불소 적용시간의 차이에 따른 법랑질과 상아질표면에서 형성된 불화칼슘의 정량분석을 시행한 결과, 우식상아질에 24시간 불소적용군에서 가장 높은 불소농도를 나타냈고, 우식법랑질에 24시간 불소적용군, 우식상아질에 5분 불소적용군, 건전상아질에 24시간 불소적용군 순으로 높았으며, 전반적으로 같은 조건이라면 상아질군이 법랑질군보다 많은 불소화합물을 형성하는 것으로 나타났다(Fig. 1).

법랑질의 경우 건전 및 우식법랑질군 사이에 통계적 유의차가 존재하지 않아 우식시행 여부가 불화칼슘형성에 영향을 미치지 않는 것으로 나타났으며(P>0.05), 불소적용시간에 따른 차이를 비교시 건전법랑질군에서는 유사한 불소농도치를 보였으나(P>0.05), 우식법랑질군에서 5분적용군보다 24시간적용군에서 높은 불소농도를 나타냄으로서(P<0.05) 우식병소가 형성된 법랑질에서는 불소적용시간이 길수록 불화칼슘형성량이 증가되었다(Table 2).

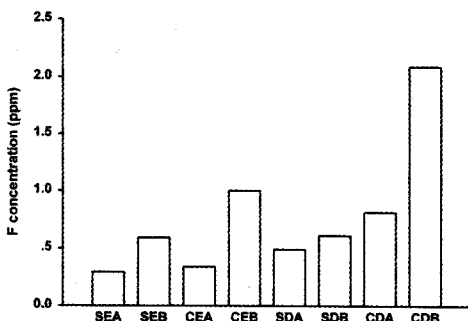


Fig. 1. Formation of calcium fluoride measures on enamel and dentin after 5min, and 24h, 12,000ppm APF application.

Table 2. Surface enamel fluoride concentrations after 5min and 24h topical APF application and net concentration increases.

	5min F treatment	24h F treatment	Net increase in enamel
Sound enamel	0.293±0.03	0.59 ±0.25	0.297±0.14
Cariou enamel	0.339±0.04	0.999±0.33	0.66 ±0.19

\*Unit: ppm. Data expressed as mean SD

상아질군에서의 불소농도는 건전상아질군에 비해 우식상아질군에서 현저히 증가된 불소농도치를 나타냄으로서 ( $P<0.05$ ) 법랑질과 달리 우식시행여부가 불화칼슘의 형성에 영향을 미치는 것으로 관찰되었으며, 건전상아질군은 적용시간에 따른 차이는 없었으나 ( $P>0.05$ ) 우식상아질군에서는 5분적용군보다 24시간적용군에서 높은 불소농도치를 보임으로서 ( $P<0.05$ ) 불소적용시간이 증가함에 따라 불화칼슘형성량도 증가됨을 나타냈다 (Table 3).

Table 3. Surface dentin fluoride concentrations after 5min and 24h topical APF application and net concentration increases.

	5min F treatment	24h F treatment	Net increase in dentin
Sound dentin	0.489±0.18	0.609±0.08	0.12 ±0.13
Cariou dentin	0.810±0.04	2.086±0.33	1.276±0.18

\* Unit: ppm. Data expressed as mean SD

## 2. 주사전자현미경 관찰

불소적용 여부 및 조건에 따른 법랑질 및 상아질표면에서의 미세구조를 관찰한 결과, 우식형성이 없는 건전 법랑질표면은 견고하고 평활하였으나, 우식이 형성된 법랑질표면은 탈회로 인한 소주간부(inter-prismatic region)의 무기질상실로 균일하게 부식된 양상을 나타냈다 (Fig. 2:SE,CE).

건전 법랑질에 5분동안 12,000ppm APF용액을 도포한 경우, 평활한 법랑질표면에 불소적용에 따른 무기질인 법랑질과의 반응산물로서 불화칼슘( $\text{CaF}_2$ )으로 보이는 매우 작은 크기의 과립형 불소화합물이 느슨하게 존재하였으며 (Fig 2:SEA), 24시간으로 불소 적용시간을 증가시 불소화합물의 성장으로 인한 한층 증가된 불소화합물의 부착이 관찰되었다 (Fig. 2:SEB)

우식이 형성된 법랑질표면에 5분간 불소를 적용한 경우는 재석회화로 인하여 탈회법랑질표면이 한층 치밀해진 표면을 나타냈으나, 명백한 불소화합물의 축적은 관찰되지 않았으며 (Fig. 2:CEA), 24시간으로 적용시간을 증가시킨 우식법랑질에서는 불소화합물의 성장함에 따라 약 1 $\mu\text{m}$  크기의 구형의 불소화합물 입자들이 다량으로 균락을 이루

며 법랑질표면에 긴밀하게 부착되어 있음이 관찰되었다 (Fig. 2:CEB).

한편 건전 상아질면은 치밀한 세관간상아질 (intertubular dentin)과 함께 노출된 상아세관 (dentinal tubule)에 도말층(smear layer)이, 인공우식을 시행한 상아질면은 탈회로 인한 세관주위 상아질(peritubular dentin)의 부분적인 상실로 확장된 상아세관이 관찰되었다 (Fig. 3:SD,CD).

건전한 상아질표면에 5분동안 불소를 적용한 경우 평활한 상아질표면에 세관주위 커프스 (Peritubular cuff)를 보였으나 불소화합물이 관찰되지는 않았으며 (Fig. 3:SDA), 24시간 불소적용시에는 세관간상아질위에 불소화합물의 현저한 부착과 함께 부분적인 상아세관부의 폐쇄양상을 나타냈다 (Fig. 3:SDB).

우식상아질에 5분동안 불소를 적용한 결과, 탈회로 인한 세관간 상아질의 균열과 세관주위 상아질(peritubular dentin)의 소실이 다소 회복된 양상을 나타냈으나 불소화합물의 존재는 관찰되지 않았으며 (Fig. 3:CDA), 24시간 불소적용한 시편에서는 수 많은 구형의 불소화합물이 성장하여 세관간상아질 및 세관주위 상아질 표면에 긴밀하게 부착되었고, 이에 따라 불화칼슘으로 보이는 반응산물의 침투로 인한 상아세관내의 폐쇄상이 관찰되었다 (Fig. 3:CDB-1). 또한 시편을 파절하여 종단면을 관찰한 결과, 상아질 표층부에 치밀하게 침착된 무기질층이 보였으며, 불소화합물로 보이는 반응산물이 상아질 표층으로부터 상아세관내 약 10 m 깊이까지 침투되어 있는 양상을 나타냈다 (Fig. 3:CDB-2).

## 3. X-선 회절분석

법랑질 및 상아질분말을 대상으로 불소적용시간의 차이에 따른 불소화합물의 결정구조를 분석한 결과, 법랑질 및 상아질 모두 대부분이 수산화인회석(Hydroxyapatite)으로 구성되었고, 일부에서 불화칼슘( $\text{CaF}_2$ )의 결정구조를 가진 반응산물의 존재가 관찰되었다.

법랑질에 대한 회절분석시 전반적으로 높고 좁은 회절정점(diffraction peak)을 나타냈으나 상아질은 낮고 넓은 회절양상을 보임으로서 법랑질의 무기질인 수산화인회석 및 반응산물인 불화칼

습의 결정구조가 상아질보다 더욱 치밀하고 견고한 결정구조를 가졌으며, 법랑질 및 상아질 모두 불소의 적용유무 및 적용시간의 차이에 따른 수산화인회석의 회절양상의 차이는 그리 크지 않았다. 또한 불소적용시 반응산물의 결정구조를 분석한 결과, 24시간 불소적용군에서의 회절정점이 28.5°와 47.1°에서 표준동정한 불화칼슘의 결정선(crystalline

line)과 일치함으로서 불소적용에 따른 법랑질과의 주 반응산물이 불화칼슘임이 분석되었다(Fig. 4, 5).

또한 반응산물의 결정도를 27.5°와 29.5°사이 회절각도상에서 분석한 결과, 5분동안 불소를 적용한 법랑질에서 결정화된 불화칼슘의 존재여부가 나타나지 않음으로서 불소를 적용하지 않은 건전법랑질과 유사하였으나, 24시간으로 불소적용시간을

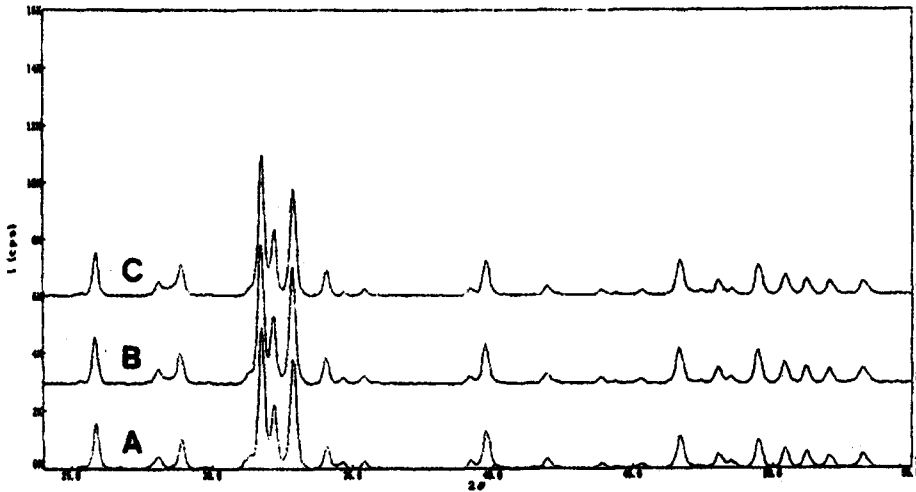


Fig. 4. X-ray diffraction patterns of the powdered enamel after APF application.  
A: the sound enamel, B: 5 min F treatment, C: 24h F treatment

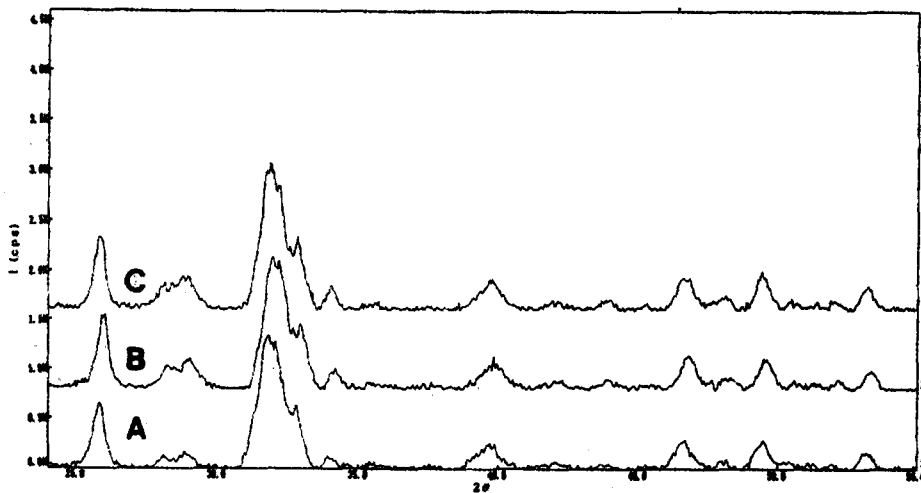


Fig. 5. X-ray diffraction patterns of the powdered dentin after APF application.  
A: the sound dentin, B: 5 min F treatment, C: 24h F treatment

증가시킨 경우에는 28.1° 및 28.9°의 회절정점을 가진 수산화인회석 결정체(105, 225) 사이에서 28.5°의 불화칼슘회절정점이 현저히 증가됨으로서 장기간의 불소적용에 따라 잘 발달된 불화칼슘결정체(111)가 형성되었음이 관찰되었다(Fig. 6).

상아질에서는 전반적으로 낮은 회절강도로서 법랑질에 비해 수산화인회석의 결정도가 낮았고, 건전상아질과 유사한 회절양상을 보인 5분 불소적용 상아질에서는 28.1°와 28.9°에서 수산화인회석결정체(203, 253)의 존재를 나타냈으며, 24시간 불소적

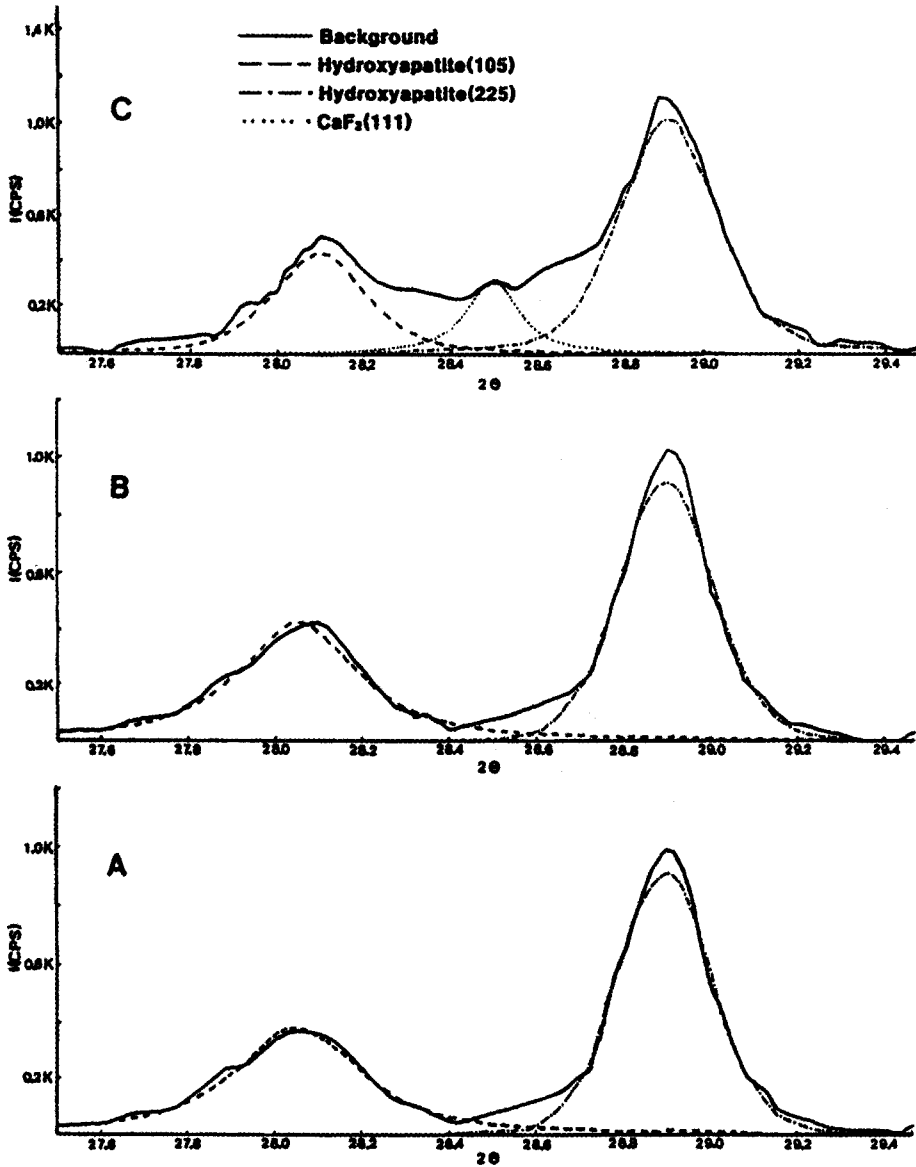


Fig. 6. X-ray diffraction data of the 27.5-29.5°(2θ) regions of bovine powdered enamel after APF application, A:the sound enamel, B:5 min F treatment, C:24h F treatment

용시 29.1°의 회절정점을 가진 수산화인회석결정체(174)가 비교적 큰 크기로 관찰되었으나, 잘 발달된 불화칼슘결정체는 나타나지 않음으로서 상아질에서의 불화칼슘은 비교적 무정형에 가까운 결정구조를 갖는 것으로 나타났다(Fig. 7).

## VI. 총괄 및 고안

치과영역에서 재석회화(remineralization)란 우식 공격으로 탈회된 법랑질이 재결정화(recrystallization) 또는 재경화(rehardening)되는 동적 회복

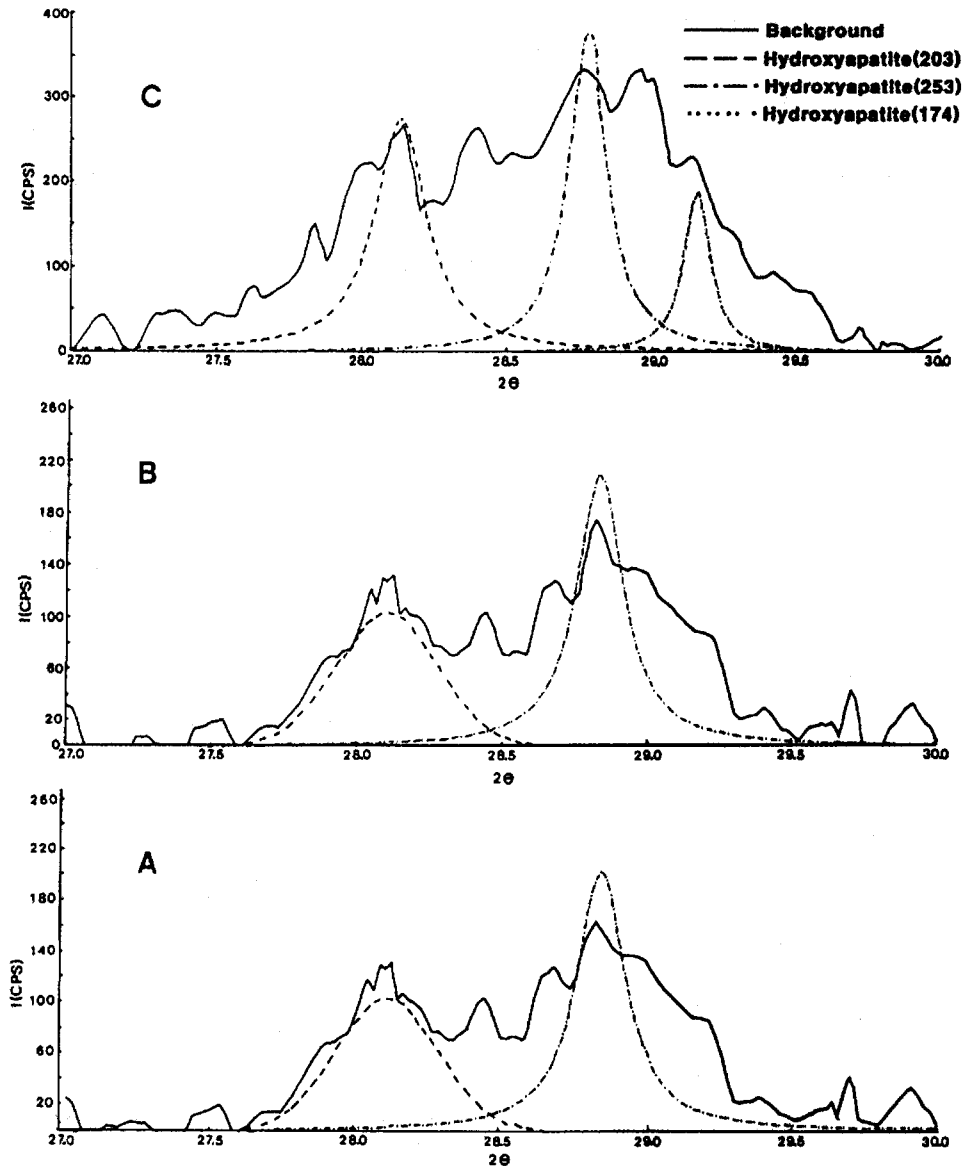


Fig. 7. X-ray diffraction data of the 27.5-29.5°( $2\theta$ ) regions of bovine powdered dentin after APF application. A: the sound dentin, B: 5 min F treatment, C: 24h F treatment



과정으로 정의되며, 이는 일단 법랑질에 우식병소가 발생되면 계속적인 우식과정으로만 진행된다는 과거의 개념과 달리 타액이나 치태내의 칼슘 또는 불소 등에 의한 우식의 반전(reverse of carious process)을 거쳐 원상태로의 회복이 가능할 수도 있음을 예고해 줌으로서 예방치료의 중요성과 함께 법랑질에 형성된 초기 우식병소에 대해 외동을 형성하지 않고도 건전한 치질로 유도할 수 있음을 제시하고 있다<sup>23,24)</sup>.

법랑질의 재석회화에 관한 많은 연구들이 수행되어 그 중요성이 언급되어 왔으나, 상아질 재석회화에 대한 연구는 여전히 미비한 상태이며, 이에 대한 중요성을 강조하고 그 역할을 규명하려는 다양한 노력이 필요한 실정이다.

상아질의 재석회화는 법랑질에 비해 매우 복잡한 현상을 나타내는데 그 이유는 우식공격에 의한 상아질의 파괴가 무기질의 탈회뿐만 아니라 유기질인 교원질의 단백용해분해(proteolytic breakdown)가 일어난다는 점이다. 따라서 상아질의 재석회화는 상아질의 미세구조와 함께 잔존하는 무기질 및 유기질에 의해 영향을 받는다고 할 수 있다<sup>25,26)</sup>.

법랑질과 상아질은 서로 다른 성질을 가진 경조직으로서 그 무기질의 구성 및 구조 뿐만 아니라 상아질이 생활조직(vital tissue)이고 생리적으로 활성화된다는 점에서 커다란 차이가 있다.

법랑질은 96%의 무기질을 가진 인체에서 가장 단단한 경조직으로서 유기질이 더 많아 탄성을 가진 상아질에 비해 더 견고하나 파절이 쉽고, 무기질은 대부분 칼슘과 인산으로서 치밀하게 석회화된 수산화인회석 결정체이며, 4~7 $\mu\text{m}$  크기의 법랑질소주를 기본단위로 형성되어 있다<sup>27,28)</sup>.

그러나 상아질은 치수-상아질 복합체의 경조직 부분으로서 70%의 무기질, 20%의 유기질 그리고 10% 수분으로 이루어져 있고, 수산화인회석의 무기질, 대부분이 I형 교원질인 유기질 및 polyprotein 등으로 구성되어 있으며, 물리적으로 탄성을 가진다. 상아질의 가장 큰 특징은 치밀하게 모여있는 상아세관으로서 상아질 전층을 가로지르며 상아질을 형성하고 유지시키는 상아모세포의 세포돌기를 포함한다는 점이다. 상아세관의 크기는 직경 약 1.2~2.5 $\mu\text{m}$  정도로 법랑질경계부에서 가장 작으나 치

수부로 갈수록 커지고 유기질성 막으로 둘러싸여 있는 구조이며, 상아질에 상당한 투과성을 부여함으로써 미생물이 침투할 수 있는 자연적인 통로를 제공하여 우식과정이 빠르게 진행되는 것으로 알려져 있다<sup>29-31)</sup>.

이러한 특성을 갖는 상아질에 불소를 적용시 법랑질과는 다른 양상의 재석회화가 이루어질 것으로 예상되는 바, 본 실험에서는 우치의 상아질을 대상으로 고농도 불소용액을 적용시 반응산물로서 불화칼슘의 형성량, 미세구조 및 결정도를 탈회여부 및 불소 적용시간의 차이에 따라 동일한 조건의 법랑질과 비교하였다.

불화칼슘은 고농도의 불소제를 법랑질에 국소도포시 법랑질에 느슨하게 결합하는 불소(loosely bound fluoride)형태의 반응산물로서, 구강내에서 서서히 용해되어 불소를 유리, 산의 공격에 대한 탈회방지와 함께 재석회화를 촉진하는 것으로 알려져 있으며, 결국 불소도포시 항우식효과는 치면에 축적되는 불화칼슘의 형성정도에 따라 영향을 받는다고 할 수 있다<sup>32-34)</sup>.

불화칼슘의 형성량은 적용되는 불소용액의 농도, 노출시간, pH 및 인산의 함유 등의 많은 요인에 의해 영향을 받는데, 낮은 pH를 가지며 인산이 포함된 고농도 불소용액일수록 불화칼슘의 형성량이 많으며, 법랑질 표면이 건전한 경우보다는 탈회면에서 더욱 긴밀한 결합이 일어난다고 보고된 바 있다<sup>35-37)</sup>.

본 연구에서는 Caslavská 등<sup>21)</sup>이 고안한 바와 같이 알칼리성 KOH용액을 사용하여 법랑질 및 상아질표면에서 형성된 불화칼슘의 양을 측정된 결과, 법랑질에 비해 상아질에서 보다 많은 불화칼슘이 형성되었고, 적용시간의 증가 및 탈회된 시편에서 불화칼슘의 형성에 있어 유리한 조건이었으며, 이는 초기 우식병소를 가진 법랑질에서 건전한 경우보다 불화칼슘의 축적이 현저히 증가되었다는 Brunn 등<sup>38)</sup>, White 등<sup>39)</sup>의 연구결과와 유사한 양상을 나타냈다.

불소적용시 형성되는 불화칼슘의 미세구조의 변화를 주사전자현미경으로 관찰한 많은 연구가들은 법랑질표면에서 다양한 크기의 불화칼슘으로 추정되는 과립자형태의 불소화합물의 축적을 관찰하였다.

Nelson 등<sup>40)</sup>, Bodde 등<sup>41)</sup>은 법랑질에 APF적용시 균열된 법랑질표면에 매우 작은 과립형의 불화칼슘과 유사한 침전물의 축적을 보고하였고, Yu 등<sup>42)</sup>은 450ppm APF 적용시 0.5 $\mu$ m 정도의 과립자의 형성을, 윤 등<sup>43)</sup>은 고농도 불소용액 도포시 불화칼슘으로 추정되는 1 $\mu$ m 크기의 수많은 구형의 과립자들이 형성되었음을 언급하였다. 또한 Kambara 등<sup>44)</sup>은 인공합성 수산화인회석에 다양한 유형의 불소제를 적용시 APF처리한 경우에서는 수산화인회석 결정체가 부분적으로 용해되어 인산기를 포함하는 구형의 불화칼슘 침전물이 형성됨을 보고한 바 있다.

상아질표면에 불소적용함에 따른 미세구조의 변화에 관한 연구는 그리 많지 않은 실정이나 Arend 등<sup>39)</sup>은 상아질에 불소적용시 상아세관 내측부에서도 변화를 나타냄으로서 상아질표면과 함께 내부에서도 재석회화효과를 나타냈고, 탈회상아질에 불소적용시 건전상아질보다 무기질의 축적이 증가되었다고 하였으며, Tveit 등<sup>45)</sup>은 fluoride varnish의 적용시 법랑질에 비해 상아질에서 많은 불소화합물의 침착이 나타났음을 주장하였다.

본 연구에서 법랑질 및 상아질표면에 고농도의 APF용액을 적용한 후 주사전자현미경 관찰한 결과, 평활한 건전치질에 비해 탈회로 인한 다공성의 법랑질표면과 상아세관의 확대 및 세관간 상아질의 균열을 보인 불규칙한 상아질표면에서 증가된 과립자형태의 불화칼슘이 관찰됨으로서 불화칼슘의 형성시 우식병소를 가진 치질이 건전한 경우보다 유리한 조건임을 알 수 있었으며, 적용시간이 증가함에 따라 무기질 및 불소화합물의 축적 역시 증가를 나타냈으며, 이는 본 연구의 불소분석 결과와도 일치됨을 알 수 있다.

법랑질에 비해 상아질에서 불화칼슘이 더 많이 형성된 이유에 관해서는 낮은 무기질성분으로 인한 다공성의 상아질에서 불소와의 반응이 더욱 크게 일어났으며, 탈회시 상아세관과 세관간 상아질에 형성된 미세균열부위의 공간을 통하여 침투성이 증가, 결국 불소화합물 및 무기질의 축적이 증가된 것으로 사료된다.

X-선 회절분석법은 치아경조직의 무기질을 구성하고 있는 수산화인회석의 결정구조의 변화를 추적하여 탈회 및 재석회화정도의 평가를 위하여 널리

사용되는 방법으로서, Frazier 등<sup>46)</sup>은 법랑질분말에 APF 적용시 법랑질과 빠르게 반응하여 불화칼슘이 형성됨을 X-선 회절법으로 확인하고, 불소적용시간이 증가함에 따라 불화칼슘의 결정도가 좋아진다고 하였고, Wen 등<sup>47)</sup>은 법랑질에 고농도의 불소적용시 불화칼슘과 수산화인회석 등 두 가지 결정구조의 존재를 확인하였으며, Bodde 등<sup>39)</sup>은 법랑질에 존재하는 구형의 과립자들은 주로 불화칼슘과 수산화인회석의 혼합된 결과라고 주장하였다. 또한 Laufer 등<sup>48)</sup>, Moreno 등<sup>49)</sup>은 X-선 회절법으로 불화인회석(fluorapatite) 또는 불화수산화인회석(fluorhydroxyapatite)의 형성량을 측정하는 것은 매우 어렵다고 하였으며, Duschner 등<sup>50)</sup>은 산도가 낮은 불소용액하에서는 법랑질표면이 변성되어 불화칼슘의 형성시 유리한 조건임을 언급하였다.

본 연구의 법랑질 및 상아질분말을 대상으로 불소적용시간의 차이에 따른 불소화합물의 결정구조를 분석한 결과, 법랑질 및 상아질 모두 수산화인회석(Hydroxyapatite) 및 불화칼슘(CaF<sub>2</sub>)의 결정구조가 관찰되었으며, 법랑질의 수산화인회석 및 불화칼슘의 결정도가 상아질보다 더욱 치밀하고 견고함으로서 산의 용해에 대한 저항성이 큰 것으로 나타났다. 또한 법랑질에서는 불소적용시간이 증가할수록 불화칼슘의 결정도 역시 증가되는 양상을 나타냈으나 상아질에서는 무정형의 불화칼슘만이 관찰되었다.

이상의 본 연구를 통하여 불소적용시 법랑질에 비해 상아질에서 불화칼슘의 형성량은 더 많으나, 법랑질의 불화칼슘이 결정도가 더 우수한 것으로 나타났으며, 탈회를 시행하거나 불소 적용시간이 길수록 불화칼슘의 형성이 증가됨을 알 수 있었다.

본 연구에서는 동일시편의 구입이 쉽고, 변이가 적은 우치의 법랑질 및 상아질시편을 이용하였으나, 우치의 무기질은 인체의 치아에 비해 더욱 다공성이 높다는 점 등은 고려되어야 할 것이며, 향후 법랑질뿐만 아니라 상아질을 대상으로 항우식 효과를 극대화할 수 있는 다양한 불소적용방법과 함께 불화칼슘의 형성에 따른 경조직에서의 반응기전, 미세구조의 형태, 타액내 인산염 또는 단백질과의 상호작용 및 수분에 대한 안정성 등에 관한 더 많은 연구가 필요하리라 사료된다.

## V. 결 론

치아우식예방을 위한 불소적용시 형성되는 불화칼슘은 무기질의 종류, 우식여부 그리고 적용시간 등의 요인에 의해 영향을 받는 바, 이에 한우 중절치의 법랑질과 상아질시편을 대상으로 우식시행 여부에 따라 건전 및 우식법랑질과 상아질로 분류하고, 불소적용시간의 차이가 불화칼슘형성에 미치는 영향을 연구하고자 불소이온분석, 주사전자현미경 관찰 그리고 X-선 회절분석 등을 통하여 불소적용시 법랑질 및 상아질표면에서의 불소의 정량분석 및 미세구조의 변화와 함께 불소화합물의 결정구조를 비교, 분석하고자 하였다.

1. 불화칼슘의 정량분석결과, 우식법랑질 및 상아질은 5분 불소적용군 보다 24시간 불소적용군에서 현저히 증가된 불소농도를 나타냈으나 ( $P < 0.05$ ), 건전법랑질과 상아질은 적용시간의 증가에 따른 불소농도의 유의한 차이는 존재하지 않았다 ( $P > 0.05$ ). 또한 법랑질에서는 우식시행 여부에 따른 불소농도의 차이가 없었으나 ( $P > 0.05$ ), 건전상아질군에 비해 우식상아질군에서 불소농도가 한층 증가되었다 ( $P < 0.05$ ).
2. 주사전자현미경 관찰시 건전법랑질에 비해 우식법랑질에서 약  $1\mu\text{m}$  크기의 구형 불소화합물 입자들이 법랑질표면에 긴밀하게 부착되어 있었으며, 우식상아질 역시 건전상아질보다 불소화합물의 현저한 증가로 인한 상아간세관부의 불소침착 및 상아세관의 부분적인 폐쇄양상을 나타냈다. 또한 법랑질 및 상아질 모두 5분 불소적용시보다 24시간 적용한 경우에서 불소화합물의 증가가 관찰되었다.
3. X-선 회절분석을 통하여 법랑질 및 상아질분말에 불소적용에 따른 불소화합물의 결정구조를 분석한 결과, 법랑질의 수산화인회석 및 불화칼슘 회절정점이 상아질보다 현저히 증가됨으로서 한층 발달된 결정구조임을 알 수 있었으며, 법랑질에 불소적용시  $28.5^\circ$ 와  $47.1^\circ$ 에서 불화칼슘결정체의 존재가 관찰되어 불소적용에 따른 주된 반응산물이 불화칼슘임이 분석되었다. 또한 불소적용시간의 차이에 따른 불화칼슘의 결정도를 비교한 결과, 5분 불소적용한 법랑질과

5분 및 24시간 불소적용한 상아질에서의 불화칼슘의 회절정점이 크게 나타나지 않았으나, 24시간 불소적용한 법랑질에서는 현저히 증가된 크기의 불화칼슘 회절정점이 관찰되었다.

## REFERENCES

1. Melberg JR, Ripa LW, Leske GS: Fluoride in Preventive Dentistry. Quintessence Publishing Co., Inc. p51, 1983.
2. Øgaard B: Effects of fluoride on caries development and progression in vivo. J Dent Res 1990;69:813-819.
3. Ekstrand J: Enhancing effects of fluoride; in Bowen WH, Tabak LA: Cariology for the Nineties. Rochester, University of Rochester Press, 1993, pp 409-420.
4. ten Cate JM, Arends J: Remineralization of artificial enamel lesions in vitro. Caries Res 1977;11:277-286.
5. Lammers PC, Borggreven JMPM, Driessens FCM: Influence of fluoride and pH on in vitro remineralization of bovine enamel. Caries Res 1992;26:8-13.
6. Jenkins GN: The physiology and biochemistry of the mouth, ed 4. Oxford, Blackwell, 1978.
7. Heintz V, Petersson LG: Accumulation, clearance of fluoride in human mixed saliva after different topical fluoride agents. Swed Dent J 1979;3:141-148.
8. Dijkman AG, Tak J, Arend J: Fluoride deposited by topical applications in enamel. Caries Res 1982;16:147-155.
9. Wefel JS, Harless JD: The effect of topical agents on fluoride uptake and surface morphology. J Dent Res 1982;60:1842-1848.
10. Gerould CH: Electron microscope study of the mechanism of fluoride deposition in teeth. J Dent Res 1945;24:223-33.
11. McCann HG: The solubility of fluorapatite and its relationship to that of calcium fluoride. Arch oral Biol 1968;13:987-1001.

12. Chander S, Chiao CC, Fuerstenau DW: Transformation of calcium fluoride for caries prevention. *J Dent Res* 1982; 61:403-408.
13. Rølla G, Saxegaard E: Critical evaluation of the composition and use of topical fluorides with emphasis on the role of calcium fluoride in caries inhibition. *J Dent Res* 1990;69:780-785.
14. Fejerskov O, Thylstrup A, Larsen MJ: Rational use of fluoride in caries prevention. A concept based on the possible cariostatic mechanisms. *Acta Odontol Scand* 1981;39:241-249.
15. Øgaard B: Applicability of acid-etching techniques for fluoride determination on enamel after topical fluoride treatment. *Acta Odontol Scand* 1988;46:337-340.
16. Rølla G, Øgaard B: Studies on the solubility of calcium fluoride in human saliva. In: Leach SA, ed. *Factors relating to demineralization and remineralization of teeth*. Oxford: IRL Press Ltd. 1986:45-50.
17. Lester KS, Boyde A: Some preliminary observations on caries crystals in enamel and dentin by SEM. *Virchows Arch Abt A Pathol Anat* 1968;344:196-212.
18. Jones SJ, Boyde A: Dentin mineralization, demineralization and microhardness: Recent studies using SEM; in Thylstrup A Leach SA Qvist V: *Dentin and dentin reactions in oral cavity*. Oxford IRL Press 1987; pp 33-55.
19. Arends J, Christoffersen J, Ruben J, Jongebloed WL: Remineralization of bovine dentin in vitro. The influence of the F content in solution on mineral distribution. *Caries Res* 1989;23:309-314.
20. Featherstone JDB, Cutress TW, Rodgers BE: Remineralization of artificial caries-like lesions in vivo by a self-administered mouthrinse or paste. *Caries Res* 1982;16:235-242.
21. Caslavská V, Moreno EC, Brudevold F: Determination of the calcium fluoride formed from in vitro exposure of human enamel to fluoride solutions. *Arch Oral Biol* 1975;20:333-339.
22. Manly RS, Hodge HC, Angle LE: Density and refractive index studies of dental hard tissues. II. Density distribution curves. *J Dent Res* 1939;18:203-211.
23. Arends J, ten Cate JM: Tooth enamel remineralization. *J Crystal Growth* 1981;53:135-147.
24. Backer Dirks O: Post-eruptive changes in dental enamel. *J Dent Res* 1966;45:503-511.
25. Arend J, Christoffersen J, Ruben J, et al: Lesion progress in dentin and the role of fluoride; in Thylstrup A, Leach SA, Qvist V: *Dentin and dentin reactions in the oral cavity*. Oxford, IRL Press 1987a, pp 117-125.
26. Arends J, Gelhard TBFM: In vivo remineralization of human enamel; in Leach SA, Edgar WM: *Demineralization and remineralization of the teeth*. Oxford, IRL Press, 1983, pp 1-16.
27. Brudevold F, Steadman LT, Smith FA: Inorganic and organic components of tooth structure. *Annals of the New York Academy Science* 1960;85:110-132.
28. Avery JK: *Essentials of oral histology and embryology*. Mosby Year Book 1992, pp 85-90.
29. Bevelander G, Nakahara H: The formation and mineralization of dentin. *Anat Rec* 1966;156:303.
30. Brannstrom M, Garberoglio R: The dentinal tubules and the odontoblast processes: SEM study. *Acta Odontol Scand* 1972;30:291.
31. 황성명 외: *구강조직학, 과학서적센터* 1996, pp 174-175.
32. Larsen MJ, Lambrou D, Fejerskov O, Tachos B: A study on the accumulation and release of loosely bound fluoride on enamel. *Caries Res* 1981;15:273-277.
33. Bruun C, Moe D, Madsen HEL: Study on the dissolution behaviour of calcium fluoride. *Scand J Dent Res* 1983a;91:247-250.
34. Øgaard B, Rølla G, Helgeland K: Alkali soluble and alkali insoluble fluoride retention in demineralized enamel in vivo. *Scand J Dent Res* 1983a;91:200-204.
35. McCann HG, Bullock FA: The reaction of fluoride ion with powdered enamel and dentin. *J*

- Dent Res 1955;34:59-67.
36. Larsen MJ, Jensen SJ: On the properties of fluoride solutions used for topical treatment and mouth rinse. *Caries Res* 1986;20:56-64.
  37. Saxegaard E, Rølla G: Fluoride acquisition in human enamel during topical application in vitro. *Scand J Dent* 1988;96:523-543.
  38. Brunn C, Givskov H: Formation of CaF<sub>2</sub> on sound enamel and in caries-like enamel lesions after different forms of fluoride application in vitro. *Caries Res* 1991;25:96-100.
  39. White DJ, Nancollas GH: Physical and chemical considerations of the role of firmly and loosely bound fluoride in caries prevention. *J Dental Res* 69(special issue) 1990:587-594.
  40. Nelson DGA, Jongebloed WL, Arends J: Morphology of enamel surfaces treated with topical fluoride agents: SEM considerations. *J Dent Res* 1983;62:1201-1208.
  41. Bodde HE, Nelson DGA, Koops PG, Arends J: Influence of reported APF applications on longterm remineralization of initial lesions in bovine enamel. *J Dent Res* 1985;61:403-407.
  42. Yu H, Xu LX, Oho T, Morioka T: The effect of a tannin fluoride mixture on human dental enamel. *Caries Res* 1993; 27:161-168.
  43. 윤현두, 김재곤, 백병주: 불소농도가 인공우식 법랑질의 재석회화에 미치는 영향. *대한소아치과학회지* 1996;23:238-260.
  44. Kambara M, Norde W: Influence of fluoride applications some physicochemical surface properties of synthetic hydroxyapatite and human dental enamel and its consequences for protein adsorption. *Caries Res* 1995;29:210-217.
  45. Tveit AB: Fluoride uptake by enamel surfaces, root surfaces and cavity walls following application of a fluoride varnish in vitro. *Caries Res* 1980;14:315-323.
  46. Frazier PD, Engen DW: X-ray diffraction study of the reaction of acidulated fluoride with powdered enamel. *J Dent Res* 1966; 45:1144-1148.
  47. Wen HB, Cui FZ, Chen XQ, Wang Q, Li HD: Structure of artificial enamel lesions after topical applications of high-concentration sodium fluoride solution in vitro. *Caries Res* 1995;29:122-129.
  48. Laufer B, Mayer I, Gedalia I, Deutsch D, Kaufman HW, Tal M: Fluoride uptake and fluoride residual of fluoride-treated human root dentin in vitro determined by chemical, SEM and XRD analyses. *Arch Oral Biol* 1981;26:159-163.
  49. Moreno EC: Role of Ca-P-F in caries prevention: Chemical aspects. *Int Dent J* 1993;43:71-80.
  50. Duschner H, Uchtmann H: Degradation of surface enamel and formation of precipitates after topical application of sodium fluoride solutions in vitro. *Acta Odontol Scand* 1988;46:365-374.

## EXPLANATION OF FIGURES

Fig. 2 SEM morphology of the enamel samples under the various conditions.

SE:sound enamel surface.

CE:cariou enamel surface.

SEA:sound enamel surface treated with 5min 12,000ppm APF solution.

SEB:sound enamel surface treated with 24h 12,000ppm APF solution.

CEA:cariou enamel surface treated with 5min 12,000ppm APF solution.

CEB:cariou enamel surface treated with 24h 12,000ppm APF solution.

Fig. 3 SEM morphology of the dentin samples under the various conditions.

SD:sound dentin surface

CD:cariou dentin surface.

SDA:sound dentin surface treated with 5min 12,000ppm APF solution.

SDB:sound dentin surface treated with 24h 12,000ppm APF solution.

CDA:cariou dentin surface treated with 5min 12,000ppm APF solution.

CDB-1:cariou dentin surface treated with 24h 12,000ppm APF solution.

CDB-2:fractured surface of cariou dentin treated with 24h 12,000ppm

APF solution.

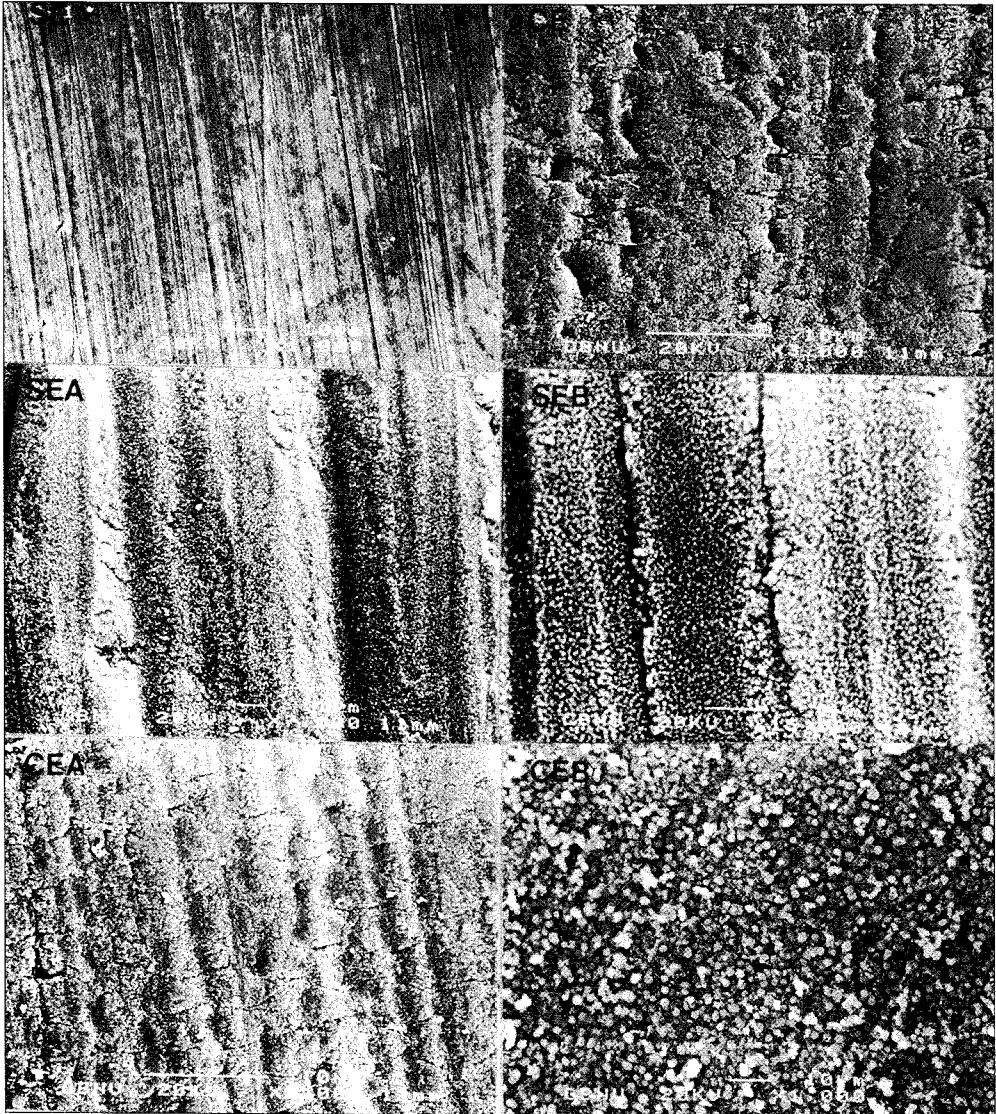


Fig. 2

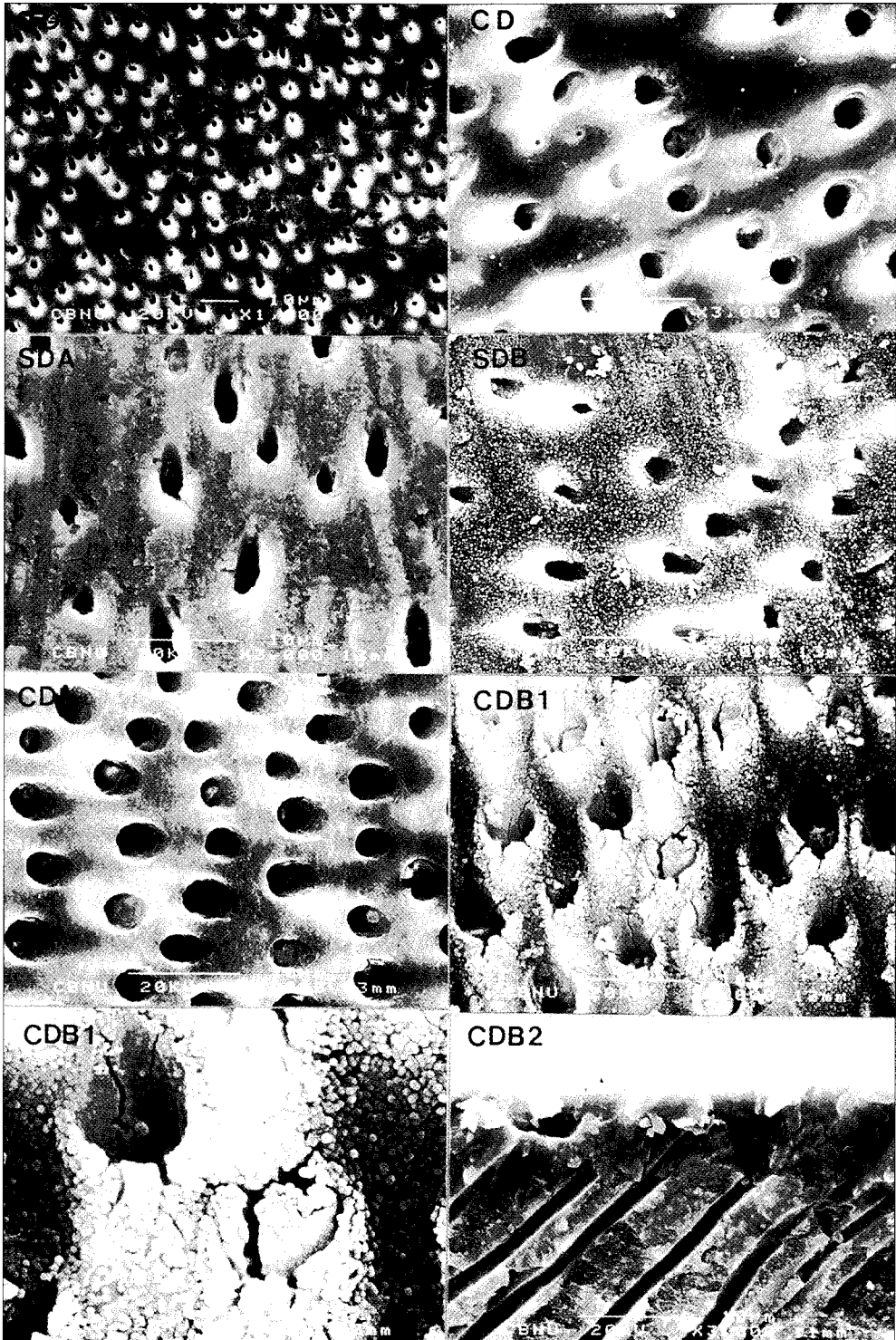


Fig. 3