

불소투여에 따른 태내백서 치아의 생화학적 및 주사전자현미경적 연구

임 도 선*
서울보건대학 치위생과

Biochemical and Scanning Electron Microscopic Study on the Enamel Organ of Fetal Rat following a Ingestion of Fluoride

Do-Seon Lim*
Department of Dental Hygiene, Seoul Health College, Sungnam 461-713
(Received June 26, 2000)

ABSTRACT

The present study has been carried out to investigate the effect of fluoride toxicity on the morphology as well as inorganic chemical constituents of rat teeth. Rats were administered sodium fluoride at dose of 0 ppm, 100 ppm, 200 ppm and 300 ppm at the beginning of pregnancy. Animals were perfused intravascularly with glutaraldehyde and the incisors were removed. Changes in the protein composition of the secretory and maturation enamel were investigated using polyacrylamide gel electrophoresis (SDS PAGE). And the enamel surface of incisors was examined under scanning electron microscope (SEM).

Changes of protein quantities were found significantly in high levels fluoride administration for experimental groups compared with control. The SDS PAGE analysis demonstrated as follows. In control group, secretory phase enamel protein, amelogenins, was detected more quantities than experimental group. The enamelin, presence in maturation phase enamel, showed more quantities than control enamel with an increasing fluoride concentration in the drinking water. Also, the scanning electron micrographic data showed hypoplastic, tough, uneven, pitted and cracked enamel surfaces covered with granular deposits as a result of excessive intake of fluoride. From these results we conclude that high dose of fluoride administration leads to severe structural alterations on the enamel surface and these structural changes could be through defective mineralization.

Key words : Biochemical, Enamel Organ, Fetal Rat, Scanning Electron Microscope, Sodium Fluoride

서 론

치아는 해부학적으로 치관(crown)과 치근(root)으

로 구성되어 있으며, 치관은 신체의 조직 중 가장 고도로 광화되어 있는 법랑질(enamel)로 덮여 있다. 법랑질은 전체의 96%를 차지하고 있는 무기질과 나머지 미량의 유기질 및 수분으로 구성되어 있으며, 무

이 논문은 1999년 서울보건대학 학술연구비의 지원을 받아 연구되었음.

* Correspondence should be addressed to Dr. Do-Seon Lim, Department of Dental Hygiene, Seoul Health College, Sungnam, 461-713, Korea. Ph.: (031) 740-7229, FAX: (031) 740-7247, E-mail: idsun61@www.shjc.ac.kr

Copyright © 2000 Korean Society of Electron Microscopy

기질은 주로 수산화인회석 미세결정 (hydroxyapatite crystallite)으로 구성되어 있고, 유기질은 각 미세결정을 감싸고 있다(Bawden et al., 1982). 이러한 다량의 무기질 성분 때문에 법랑질은 세균이 만드는 산성 환경에 의해 쉽게 탈회되어 결국은 치아우식증 (dental caries)에 이르게 된다(Griffin et al., 1975).

법랑질을 구성하는 수산화인회석 미세결정의 밀집 패턴은 부위에 따라 차이를 보이며, 법랑질의 조직학적 구조는 이러한 결정 배열에 기인하는 것으로 알려져 있다. 이러한 결정의 배열 방식은 법랑소주 (enamel rod)의 구조를 형성하며, 이 법랑소주 사이에는 소주간질 (interrod substance)이 존재하는데, 소주간질은 법랑소주에서와 다른 방향으로 배열된 인회석 미세결정 구조로 이루어져 있다(Collins & Dawes, 1987). 법랑모세포의 생활주기나 법랑질형성에 관여하는 유기기질에 관하여는 다수의 연구가 발표되어 있으나(McKee & Warshawsky, 1986; Nanci et al., 1987, 1989; Takano et al., 1989; Salama et al., 1991), 법랑단백질의 합성과 분비 및 석회화 과정에 따른 단백질의 운명에 대해서는 아직도 명확하게 밝혀져 있지 않은 실정이다. 또한, 불소투여에 의한 법랑질형성과 형성과정중 기질단백질에 미치는 영향에 관한 연구도 일부 보고된 바 있으나(DenBesten, 1986; Suckling et al., 1988; Aoba et al., 1990; Smith et al., 1993), 임신 중에 섭취된 불소에 의한 태내 치아발육에 관한 연구는 전무한 상태이다. 이에 본 저자는 임신한 어미흰쥐에 투여된 불소가 흰쥐 태아의 법랑질형성에 미치는 영향을 알아보려고 하였다.

따라서, 생후 11일 되는 어린 흰쥐 (20~25g)의 하악 절치를 대상으로 전자현미경을 이용하여 법랑모세포의 생활주기로 알려진 전분비대 (zone of presecretion), 분비대 (zone of secretion) 및 성숙대 (zone of maturation)에서 법랑질의 표면구조의 변화를 관찰하였고, 분비대와 성숙대의 법랑질에서 법랑단백질을 추출한 후 전기영동하여 법랑질 형성시 분비되는 단백질인 amelogenin과 enamelin의 양적인 변화를 확인하였다.

재료 및 방법

1. 실험재료

동물실에서 사용한 체중 150~200g 내외의 Sprague-Dawley계 흰쥐 52마리를 선별하여 임신시켰다. 이후 출생 11일째 되는 어린 흰쥐를 대조군과 세 그룹의 실험군으로 나누어 형태학적분석에 사용하였다. 그리고 단백질분석에는 대조군과 두 그룹의 실험군으로 나누어 실험하였다. 대조군 어미흰쥐에게 임신 직후부터 출생 11일째 되는 어린 흰쥐를 희생하는 날까지 증류수를 공급하였고, 실험군은 어미흰쥐에 100 ppm, 200 ppm 및 300 ppm의 각기 다른 농도의 불소용액을 식수로 제공한 후, 출생 후부터 11일 되는 날까지는 증류수를 공급하여 체중 20~25g 내외의 어린 흰쥐를 희생하여 실험에 사용하였다.

2. 단백질 분석

1) 법랑질 표본준비

법랑단백질의 종류와 양을 확인하고자 각 군 당 약 100마리 정도의 생후 11일 된 흰쥐에게 ether를 흡입시켜 마취시킨 후 희생하였다. 하악 절치를 발치하여 법랑기와 치수를 기계적으로 제거하고 법랑질 표면을 노출시킨 뒤, 식염수로 적신 거즈로 조심스럽게 세포 잔여물과 혈액을 깨끗이 제거하였다. 그리고 면도칼을 이용하여 경도가 아직 높지 않은 분비기 법랑질과 경도가 충분히 높은 성숙기 법랑질을 구분하여 각각을 모은 후 냉동건조 시켰다. 이후 건조된 법랑질을 막자사발에서 액체질소를 넣으면서 미세한 분말로 만들어 -30°C에 보관하여 실험에 사용하였다.

2) 법랑단백질 추출

분비기 법랑질과 성숙기 법랑질의 기질단백질을 phosphatase-protease inhibitor (50 mM ϵ -amino-n-caproic acid, 5 mM benzamidine, 1 mM phenylmethylsulfonyl fluoride, 0.5 mM N-ethylmaleimide, 1 mM levamisole)가 포함된 0.5 M acetic acid에 용해시켜 얻었다. 이들 기질단백질을 0.5 M acetic acid 10 ml를 가해 4°C에서 완전히 녹이고 0°C에서 10,000 g로 10

분간 원심분리 (Backman, England) 하였으며, 상층액을 모아 남아있는 침전물에 동일 용액으로 혼탁시켜 다시 원심분리 하였다. 침전물이 모두 제거되도록 이런 과정을 5회 반복하여 상층액을 모두 모았다. 회수된 상층액을 ultrafiltration membrane (YM-5; cut-off 3 kD M.W., Amicon Co., MA)으로 탈염하고 농축시킨 후, 냉동건조시켰다. 이후 -30°C 에 보관하여 실험에 사용하였다.

3) 단백질 측정

동결건조된 분말형태의 법랑단백질에 20 mM의 acetic acid 500 μl 를 넣어 녹인 다음, bovine serum albumin을 표준단백질로 하여 Bradford (1976)의 방법에 의해 측정하였다.

4) 전기영동

Laemmli (1970)의 방법에 따라 0.1% SDS를 포함하는 0.1 M Tris-glycine buffer (pH 8.3)에서 15% polyacrylamide gel을 사용하여 15 mA의 constant current로 약 4시간 동안 전기영동하였다. 전기영동후, Coomassie Brilliant Blue (CBB)로 염색하였고, 3.5% acetic acid를 포함하는 30% methanol을 사용하여 탈색하였다.

3. 주사전자현미경적 관찰

불소 투여에 따른 법랑질 표면구조의 변화를 관찰하기 위하여 각 그룹의 어린 흰쥐를 ether로 마취시킨 후, 2.5% glutaraldehyde 용액 (0.1 M cacodylate buffer, pH 7.4)으로 좌심실을 통하여 관류 고정한 후, 하악을 절취하여 동일 용액에 1시간 30분 동안 전고정하였다. 치아를 발치 한 후, 치아에 붙어있는 유기물들을 제거하기 위하여 3% sodium hypochloride에 넣고 초음파세척기에서 10분간 세척하였다. 이후 증류수로 수세하고 100% acetone에서 탈수하였다. 탈수가 끝난 시료를 임계점 건조기 (Bio-Rad, Microscience Division, England)로 건조하고 copper stub에 부착하여 Ion-Sputter Coater (Bio-Rad, Polaron Division, England)에서 gold-palladium으로 20 nm 두께로 피복한 후, 주사전자현미경 (JEOL 840A, Japan)으로 관찰하였다.

결 과

1. 법랑단백질의 조성 및 양의 변화

1) 단백질 조성

대조군과 100 ppm 및 200 ppm 불소투여군으로 나누고 이를 다시 분비법랑질과 성숙법랑질로 구분하여 실험한 결과, 2개의 주요 단백질 band가 분리되었다. 분비법랑질에서는 대조군, 100 ppm 및 200 ppm 불소투여군 모두에서 분자량 22~24 kDa의 amelogenin band가 분리되었다. 그리고 성숙법랑질에서는 세 그룹 모두에서 분자량 68 kDa의 enamelin band가 분리됨을 확인할 수 있었다 (Fig. 1).

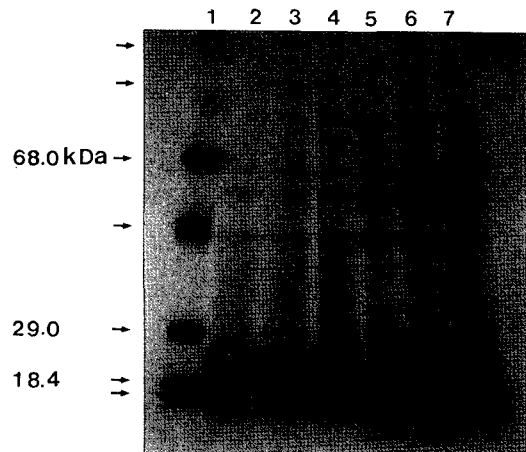


Fig. 1. The SDS PAGE of enamel proteins. lane 1; marker, lane 2; control, lane 3; treated with 100 ppm sodium fluoride, lane 4; treated with 200 ppm sodium fluoride of secretory enamel, respectively. Lane 5; control, lane 6; treated with 100 ppm sodium fluoride, lane 7; treated with 200 ppm sodium fluoride of maturation enamel, respectively.

2) 단백질 정량

분비법랑질에서 추출된 단백질의 양은 대조군에서 14.346 mg, 100 ppm 불소투여군에서 13.785 mg, 200 ppm 불소투여군은 8.698 mg이었다. 즉 대조군에 비해 불소투여 농도가 높아질수록 단백질의 양이 감소하였다. 성숙법랑질에서 추출된 단백질의 양은 대조군에서 2.723 mg, 100 ppm 불소투여군에서 5.391 mg,

200 ppm 불소투여군에서 6.201 mg으로 나타났는데, 대조군에서 단백질 양이 가장 적었고, 100 ppm 및 200 ppm 불소투여군으로 불소농도가 높아질수록 단백질 양이 증가한 것으로 확인되었다(Table 1).

Table 1. Amount of extracted enamel proteins
(Unit: per mg enamel)

Yield	Group	Proteins extracted in acid solution
Secretory enamel	Control	14.346
	100 ppm NaF	13.785
	200 ppm NaF	8.698
Maturation enamel	Control	2.723
	100 ppm NaF	5.391
	200 ppm NaF	6.201

2. 주사전자현미경적 관찰

대조군의 경우, 정상적인 절치는 크기와 모양이 일정한 소공(pore)들이 법랑질 표면 전반에 걸쳐 나타났으며, 모든 부위에서 매끄럽고 평탄한 표면이 관찰되었다(Figs. 2a, b). 불소투여군에서는 불소 농도가 높아짐에 따라 대조군에 비해 현저한 표면구조의 변화를 관찰할 수 있었다. 100 ppm 불소투여군의 경우는 대조군에 비해 법랑질 표면의 구조적 변화가 현저한 차이는 없었으나, 일부에서 불규칙하고 다소 크기가 커진 소공과 작은 결절(protuberance)이 관찰되었다(Figs. 3a, b). 200 ppm 불소투여군에서는 100 ppm 불소투여군에 비해 전반적으로 서로 다른 크기의 불규칙한 소공과 서로 다른 시기에 형성된 소와(pit) 그리고 부분적인 균열도 관찰되었다. 또한, 과립상의 침전물로 덮여있는 불규칙하고 매우 거친 법랑질표면이 관찰되었다(Figs. 4a, b). 그리고 300 ppm 불소투여군의 경우는 다른 실험군에 비해 전체적으로 많은 구조적 변화를 보여주었는데, 심한 구조적 손상을 나타내는 소와가 관찰되었고, 산재된 crystal로 덮여있는 부위에서는 법랑질 형성부전이 나타났다. 또한 법랑질 형성부전 부위에서는 간상의 결정(rodlike crystal)들이 관찰되었다(Figs. 5a, b).

고 찰

법랑단백질은 주로 amelogenin과 enamelin 단백질

로 구성되어 있으며, 법랑질 형성에 관여하는 것으로 알려져 있다. 그러나 이 두 단백질의 발현 및 기능에 관하여는 현재까지 확고하게 정의된 것이 없는 실정이다. 법랑단백질은 생물의 종에 따라 다른 이소형태(isoform)로 나타나며, 무기결정의 성장과 구성에 중요한 역할을 하는데, 결정의 성장은 필연적으로 일부 단백질의 제거가 이루어져야 한다고 보고되었다(Aoba et al., 1990).

불소는 생성되는 법랑단백질에 화학적, 구조적인 변형을 일으켜 불소인회석과 강하게 결합함으로써 법랑단백질 분해효소에 의한 산화가 적게 일어나게 하며(Tanabe et al., 1988; Dajean & Menanteau, 1989; Aoba et al., 1990; Robinson & Kirkham, 1990), 법랑단백질의 분해효소의 활성을 억제(Robinson & Kirkham, 1984) 시킴으로서 법랑질의 변화를 이끄는 것으로 알려져 있다. 또한, 생체에 불소를 장기간 투여하면 성숙기 법랑질은 단백질의 제거 능력이 감소되어 광화부전 등이 초래된다고 알려져 있으나(Shinoda, 1975; Fejerskov et al., 1980; DenBesten & Crenshaw, 1984), 현재까지 불소에 의한 정확한 기전은 밝혀지지 않은 실정이다.

Patterson et al. (1976)은 흰쥐에 불소를 투여했을 경우 법랑질 발생 초기에 법랑단백질의 양, 분자구조 및 구성 아미노산에 변화가 있다고 보고하였는데, 불소투여군에서는 법랑모세포에 의해 합성된 EDTA-soluble 단백질이 양적으로 감소되며, 이 단백질의 아미노산중 7개가 변화되었다고 하였다. 또한, DenBesten & Crenshaw (1984)는 고농도의 불소를 투여한 흰쥐의 분비기 법랑질에서는 법랑단백질이 대조군에 비해 적은 양이 관찰되었다고 보고하였다. 본 실험에서 단백질을 정량 분석한 결과 분비기의 주요 단백질은 amelogenin으로 확인되었으며, 분비기 법랑질에서는 대조군에서 법랑단백질(amelogenin)의 양이 가장 많았고, 불소 농도가 높아질수록 그 양은 점차로 감소되는 것으로 확인되었다. 이 결과는 임신중에 불소를 섭취한 어미흰쥐로부터 태아의 법랑모세포에 병적 현상을 초래하여 법랑모세포가 법랑단백질 형성에 장애를 받았기 때문으로 생각된다(Patterson et al., 1976).

DenBesten & Crenshaw (1984)는 불소가 침착된 성

속법랑질의 단백질은 대조군에 비하여 많은 proline 을 함유함으로써 amelogenin의 제거를 지연시킨다고 하였다. Angmar-Månsson & Whitford (1984)는 후기 보다 초기 성숙법랑질에서 다량의 amelogenin이 존재한다고 하였으며, 후기 성숙법랑질에 농도별로 불소를 투여했을 때 100 ppm에서만 amelogenin이 존재하는 것으로 보고하였다. 본 실험에서 성숙기 법랑질에서는 불소를 투여하였을 때 대조군과 비교하여 많은 양의 enamelin이 확인되었고, 농도가 높아짐에 따라 enamelin도 증가하는 것으로 나타났다. 따라서, 불소농도가 증가함에 따라 법랑모세포의 amelogenin 제거능력이 저하됨으로써, enamelin의 양이 증가한 것으로 보여진다.

Susheela & Bhatnagar (1993)는 토끼에 장기간 불소가 함유된 음용수를 섭취시켜 치아발육 기간에 형성되는 법랑질의 표면구조를 관찰한 결과, 대조군에서는 평탄하고 매끄러운 표면구조를 나타낸 반면에, 불소투여군에서는 과립 침적물로 덮여있는 불규칙하고 매우 거친 표면구조가 형성된다고 하였다. 또한 일부 법랑질 표면에서는 균열과 열구 주위에 소낭 형태의 결절이 관찰되었고, 법랑질의 형성부전과 함께 부분적으로 과형성 되었다고 보고하였다. Nordland & Lendskog (1986)는 불소 투여시 흰쥐의 구치에서 법랑질 표면 형태에 관하여 보고한 바에 의하면, 불소 투여 시기와 투여량에 비례하여 법랑질 표면구조가 심하게 변형되었다고 하였다.

본 연구에서 임신한 어미흰쥐에 100 ppm, 200 ppm 및 300 ppm의 불소를 음용시킨 후 절치의 표면을 주사전자현미경으로 관찰한 결과, 대조군에서는 매우 평탄하고 매끄러운 표면이 관찰되었고, 불소투여군에서는 과립 침적물로 덮여있는 불규칙하고 매우 거친 표면구조가 관찰되었으며, 불소 농도가 높을수록 더 심한 거친 표면구조들이 증가하였다. 그리고 일부 균열과 열구된 표면에서 낭종상의 결절이 확인되었는데, 이러한 낭종상은 치배발생에서 형성될 수 있으며, 일부의 경우 법랑기질 형성을 억제할 수 있다고 보고되었다 (Susheela & Bhatnagar, 1993). 그러므로 장기간 불소에 노출된 부위는 법랑질 표면에 소공(pore)과 구(groove)를 만들고 드물게는 법랑질을 형성하지 못한다. 따라서 이러한 결과는 Susheela & Bhatnagar

(1993)이 보고한 결과와 유사하며, Nordland & Lendskog (1986)의 보고와도 일치한다. 그러므로 본 실험결과로 불소투여시 치아의 발육은 어미흰쥐 뿐만 아니라 흰쥐태아에게도 치아형성에 영향을 미치는 것으로 확인되었다.

감사의 글

이 논문은 1999년 서울보건대학 학술연구비의 지원을 받아 연구되었음.

참고 문헌

- Angmar-Månsson B, Whitford GM: Enamel fluorosis related to plasma F level in the rat. *Caries Res* 18 : 25-32, 1984.
- Aoba T, Moreno EC, Tanabe T, Fukae M: Effects of fluoride on matrix proteins and their properties in rat secretory enamel. *J Dent Res* 69 : 1248-1255, 1990.
- Bawden JW, Crenshaw MA, Takano Y, Hammarström L: Session III - Enamel organ morphology, function, and transport. Ion transport through the enamel organ - An update. *J Dent Res* 61 : 1552-1554, 1982.
- Bradford M: A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding. *Analyst Biochem* 72 : 248-254, 1976.
- Collins LMC, Dawes C: The surface area of the adult human mouth and thickness of the salivary film covering the teeth and oral mucosa. *J Dent Res* 66 : 1300-1308, 1987.
- Dajejan S, Menanteau J: A western-blotting study of enamel glycoproteins in rat experimental fluorosis. *Arch Oral Biol* 34 : 413-418, 1989.
- DenBesten PK: Effects of fluoride on protein secretion and removal during enamel development in the rat. *J Dent Res* 65 : 1272-1277, 1986.
- DenBesten PK, Crenshaw MA: The effects of chronic high fluoride levels on forming enamel in the rat. *Arch Oral Biol* 29 : 675-679, 1984.
- Fejerskov OK, Larsen MJ, Thylstrup A: Cytological features of rat ameloblasts following long-term fluoride exposure (abstract). *Caries Res* 14 : 181-182, 1980.
- Griffin CJ, Hawthorn R, Harris R: Anatomy and histology of the human temporomandibular joint. *Monogr Oral Sci* 4 :

- 1-15, 1975.
- Laemmli UK: Cleavage of structure proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* 277 : 680-685, 1970.
- McKee MD, Warshawsky H: Effects of various agents on staining of the maturation pattern at the surface of rat incisor enamel. *Arch Oral Biol* 31 : 577-585, 1986.
- Nanci A, Slavkin HC, Smith CE: Immunocytochemical and radioautographic evidence of secretion and intracellular degradation of enamel proteins by ameloblasts during the maturation stage of amelogenesis in rat incisors. *Anat Rec* 217 : 107-123, 1987.
- Nanci A, Ahluwalia JP, Pompura JR, Smith CE: Biosynthesis and secretion of enamel proteins in the rat incisor. *Anat Rec* 224 : 277-291, 1989.
- Nordland AL, Lendskog S: Scanning electron microscopy of fluoride induced disturbances in enamel surface of rat molar. *Scand J Dent Res* 94 : 185-192, 1986.
- Patterson CM, Basford KE, Kruger BJ: The effect of fluoride on the immature enamel matrix protein of the rat. *Arch Oral Biol* 21 : 131-132, 1976.
- Robinson C, Kirkham J: Enamel matrix components, alterations during development and possible interactions with the mineral phase. In: Fearnhead, R. and S. Suga (eds.), *Tooth enamel IV*, Elsevier Publ Amsterdam, pp. 216-265, 1984.
- Robinson C, Kirkham J: The effect of fluoride on the developing mineralized tissues. *J Dent Res* 69 : 685-691, 1990.
- Salama AH, Zaki AE, Eisenmann D: Fine structural changes and lysosomal phosphatase cytochemistry of ameloblasts associated with the transitional stage of enamel formation in the rat incisor. *Am J Anat* 190 : 279-290, 1991.
- Shinoda H: Effects of long term administration of fluoride on physio-chemical properties of the rat incisor enamel. *Calcif Tissue Res* 18 : 91-100, 1975.
- Smith CE, Nanci A, Denbesten PK: Effects of chronic fluoride exposure on morphometric parameters defining the stages of amelogenesis and ameloblast modulation in rat incisors. *Anat Rec* 237 : 237-258, 1993.
- Suckling G, Thurley DC, Nelson DGA: The macroscopic and scanning electron microscopic appearance and microhardness of the enamel, and the related histological changes in the enamel organ of erupting sheep incisors resulting from a prolonged low daily dose of fluoride. *Arch Oral Biol* 33 : 361-373, 1988.
- Susheela AK, Bhatnagar M: Fluoride toxicity: a biochemical and scanning electron microscopic study of enamel surface of rabbit teeth. *Arch Toxicol* 67 : 573-579, 1993.
- Takano Y, Matsuo S, Wakisaka S: Histochemical localization of calcium in the enamel organ of rat incisors in early-stage amelogenesis. *Acta Anat* 134 : 305-311, 1989.
- Tanabe T, Aoba T, Moreno EC, Fukae M: Effect of fluoride in the apatitic lattice on adsorption of enamel proteins onto calcium apatites. *J Dent Res* 67 : 536-542, 1988.

< 국문 초록 >

임신중에 투여된 불소가 흰쥐태아의 법랑질형성에 미치는 영향을 알아보기 위하여 어미흰쥐에게 불소를 음용 시킨 후, 생후 11일이 경과된 어린 흰쥐를 희생하였다. 이후, 하악절치를 발치한 후, 법랑단백질의 종류 및 양적 변화와 법랑질 표면의 형태학적 변화를 관찰하였다. 분비법랑질과 성숙법랑질에서 추출한 법랑단백질을 전기영동한 결과, 분비법랑질에서는 분자량 22~24 kDa의 amelogenin이 확인되었는데, 대조군에서보다 불소투여 농도가 높아질수록 양이 감소하였다. 성숙법랑질에서는 분자량이 68 kDa의 enamelin이 확인되었으며, 대조군에 비해 불소투여 농도가 높을수록 양적인 증가가 확인되었다. 그리고 주사전자현미경을 사용하여 법랑질 표면을 관찰한 결과, 대조군에서는 평탄하고 매끄러운 표면인 반면에 불소투여군은 거친 표면과 균열이 심하게 나타났고, 불규칙한 소공이 관찰되었다. 그리고 일부에서는 균열과 함께 주머니 같은 결절과 법랑질 형성부전을 확인하였다.

따라서 본 연구결과, 태아발생과정 중 투여된 불소가 법랑질형성에 관여하는 법랑모세포에 영향을 줌으로써 단백질의 형성과 분비가 지연 또는 억제되며, 수분과 단백질 제거에 관여하는 법랑모세포의 기능을 저하시키는 것으로 사료된다. 이러한 단백질의 비정상적인 형성과 분비는 법랑질 형성부전 등의 법랑질형성에 전반적으로 영향을 미치는 것으로 확인되었다.

FIGURE LEGENDS

- Fig. 2.** Scanning electron micrographs of the enamel surface in normal rat tooth. a, b: The smooth surface was observed in normal incisor. Scale bars indicate 10 μm
- Fig. 3.** SEM images after treatment of 100 ppm sodium fluoride. In this concentration, enamel surface had various pits in different size (a), and small protuberances (b). Scale bars indicate 10 μm
- Fig. 4.** Enamel surface images at 200 ppm treated groups. a: The enamel surface was uneven and rough, also granular deposits covered enamel surface. b: Large irregular pores of different dimension were observed on the rough surface enamel. It was observed on enamel surface that cracks and pits structures formed by different stage. Scale bars indicate 10 μm
- Fig. 5.** Enamel surface at a high concentration of sodium fluoride. After ingestion of 300 ppm sodium fluoride, enamel surface was severely changed. It was observed that rod-like crystal structure through hypoplastic lesion (a), and that deep invaginated hypoplasia covered with scattered crystals on the edge (b). Scale bars indicate 10 μm

