

## 탈회된 법랑질에서 CPP-ACP의 재광화 깊이

최한주 · 최영철\* · 김광철\* · 최성철\*

경희대학교 치과대학 소아치과학교실, \*구강생물학연구소

### 국문초록

이 연구는 Casein phosphopeptides-amorphous calcium phosphate (CPP-ACP)paste에 의해 제공되는 Calcium(Ca)과 Phosphorous(P) 이온이 탈회된 법랑질 표면에 적용된 시간에 따라 침투되는 깊이와 Ca/P의 상대적 정량값을 평가하고자 하였다. Field Emission Scanning Electron Microscopy(FE-SEM)와 Energy Dispersive X-ray Spectrometer(EDS)를 이용하여 Ca/P 이온의 정량적 측정으로 탈회된 법랑질 내로의 침투깊이를 계측하였다.

교정치료를 위해 발거된 제 1소구치 치관 협측면의 중앙 1/3부위에 4 X 9mm의 법랑질 window를 제외한 나머지 치관부위는 nail varnish로 도포하여 window 부위의 법랑질만 노출시킨 후, 모든 치아를 0.1M lactic acid로 7일 동안 탈회시켰다. 탈회된 각 치아의 정중앙을 장축에 따라 절단한 후 그 중 4개의 소구치 절편은 10배 희석된 CPP-ACP paste 용액에 각각 1, 2, 3 및 5주 동안 침지시켰고, 나머지 4개의 소구치 절편은 증류수에 동일 기간 침지시켰다. 각 절편을 window에 대해 수직으로 절단하여 건전 법랑질, 탈회된 법랑질 및 재광화된 법랑질의 깊이에 따른 Ca/P의 Spectrum Density Index(SDI)를 FE-SEM과 EDS로 계측하였다. 각 계측치를 Student's t test로 비교 평가하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. Ca/P 이온이 법랑질 표면으로부터 약 1050~1400 $\mu$ m까지 침투하여 탈회 법랑질의 깊이인 1050~1350 $\mu$ m까지 재광화되었다.
2. 1주군과 2주군의 재광화된 법랑질의 Ca/P SDI는 건전 법랑질보다 유의성 있게 높았으나( $p < 0.05$ ), 3주군에서는 건전 법랑질보다 유의하게 낮았고( $p < 0.05$ ), 5주군은 건전 법랑질과 유의한 차이가 없었다( $p > 0.05$ ).
3. 모든 재광화된 법랑질 간에 Ca/P의 SDI는 유의한 차이가 없었다( $p > 0.05$ ).

**주요어** : CPP-ACP, 재광화, 이온 침투 깊이

### I. 서 론

구강 환경 내에서 법랑질은 지속적으로 탈회와 재광화 과정을 반복하면서 법랑질 표면(subsurface)에서의 무기질 농도의 균형을 유지한다<sup>1,2)</sup>. 만약 여러 가지 구강 내 환경 요인에 의해

이 균형이 깨어져 탈회가 재광화 보다 빠르게 진행된다면 법랑질의 표면파괴로 cavitation이 발생된다<sup>3)</sup>.

Reynolds와 Johnson(1981)<sup>4)</sup>이 우유 및 치즈의 항우식 능력을 보고한 이후로 많은 연구자들 역시 동물 및 인간의 생체 연구를 통해 이같은 사실을 보고하였다. Harper(1986)<sup>5)</sup>등과 Silva(1987)<sup>6)</sup>등은 치즈 속의 calcium phosphate와 phosphoprotein casein 성분은 치아우식에 대한 예방 효과가 있다고 하였다.

CPP는 calcium phosphate의 phosphoserin 잔기와 ACP를 결합시켜 calcium phosphate를 용액 내에서 안정화시키고 미세한 CPP-ACP cluster를 형성하여 치면에서 ACP가 과포

교신저자 : 최 영 철

서울시 동대문구 회기동

경희대학교 치과대학 소아치과학교실

Tel: 02-958-9371

E-mail: choiyc@khu.ac.kr

화(supersaturation)될 수 있도록 한다. 이와 같은 기전에 의해 제공되는 Ca/P 이온들은 탈회된 법랑질 표면에서 고농도로 존재하게 되고 탈회된 법랑질 내로 침투하여 탈회를 억제하거나 재광화를 촉진하는 것으로 알려져 있다<sup>7,8)</sup>.

많은 연구들에서 CPP-ACP가 실험실적으로 동물 또는 사람의 법랑질 표면에 발생된 치아우식 병소의 재광화를 촉진시키고, 법랑질의 탈회를 억제한다고 보고하고 있다<sup>7,9,10)</sup>. Yamaguchi(2006)<sup>3)</sup> 등은 탈회된 소의 치아에 10배 희석된 CPP-ACP paste를 적용한 후, 재광화된 법랑질의 무기질 성분의 함량을 sonic velocity로 측정하여 재광화된 법랑질이 CPP-ACP를 적용하지 않은 치아에서보다 무기질 성분의 함량이 높다고 보고한 바 있다.

CPP-ACP에 의한 Ca/P의 침투로 재광화된 법랑질의 무기질을 측정하기 위하여 많은 선학들의 연구에서 흔히 무기질의 체적 비율의 증감을 평가하였다. 특히 Reynolds(1997)<sup>8)</sup>는 microphotometry와 SEM 및 EDS(Energy Dispersive Spectroscopy)를 사용하여 Ca/P의 체적비율을 측정하고자 하였고, Shen(2001)<sup>11)</sup> 등, Lijima(2003)<sup>12)</sup> 등 및 Cai(2003)<sup>13)</sup> 등은 microradiography와 무기질의 densitometric profile를 이용하여 CPP-ACP의 재광화 정도를 무기질의 체적 비율을 평가하였다.

이상과 같이 선학들의 대부분 연구에서는 CPP-ACP에 의한 무기질의 양을 측정하여 탈회된 법랑질의 재광화 정도를 보고

하고 있다. 더구나 이들의 연구들은 법랑질 표면으로부터 약 100 $\mu$ m이내의 표층 깊이에서 재광화 정도를 평가, 보고하고 있다<sup>8)</sup>. 따라서 탈회된 법랑질에서 CPP-ACP에 의한 Ca/P의 침투깊이가 어느 정도까지 가능한지는 가늠하기 어렵다.

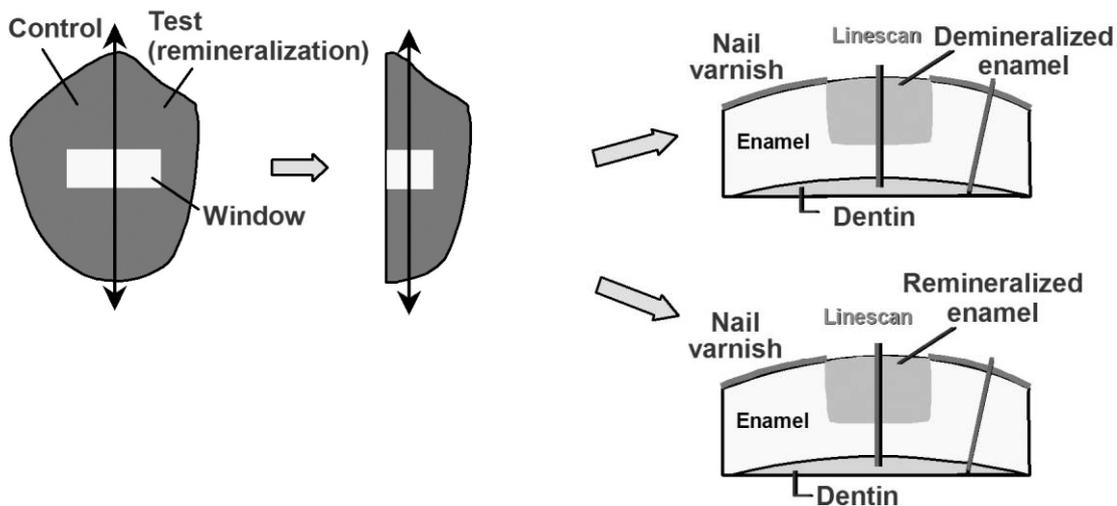
본 연구는 약1350 $\mu$ m 깊이의 충분한 법랑질 탈회를 형성한 후 적용된 시간에 따른 Ca/P 이온의 상대적 정량값을 측정하여 재광화 깊이를 평가하고자 하였다. 이를 위해 FE-SEM(LEO SUPRA 55, Carl Zeiss, Germany)과 EDS(GENESIS 2000, EDAX, USA: Linescan of Calcium and Phosphorus)을 이용하였다.

## II. 연구재료 및 방법

### 1. 연구재료

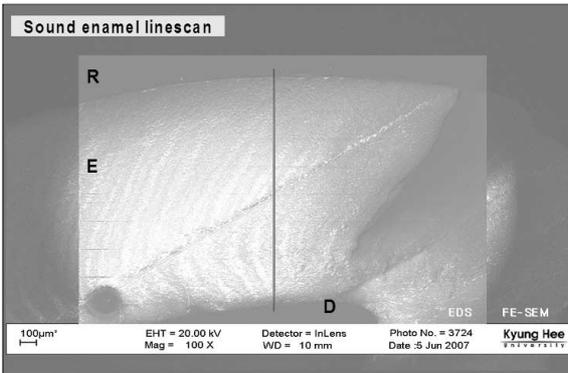
교정치료를 위해 발거된 제 1소구치 중 crack 또는 erosion이 없는 4개 치아의 협측면을 Soflex disks(3M, St. Paul, Minn., USA)를 이용하여 mirror finish를 시행한 후 치관 협측면 중앙 1/3부위의 window(4 $\times$ 9 mm)를 남겨 둔 나머지 면에 nail varnish를 도포하였다(Fig. 1).

탈회용액은 pH4.8로 조절된 0.1M lactic acid, 500mg/L hydroxyapatite, 20g/L Carbopol C907(carboxypolymethylene BF Goodrich, Cleveland, OH, USA)<sup>8)</sup>을 사용하였고,

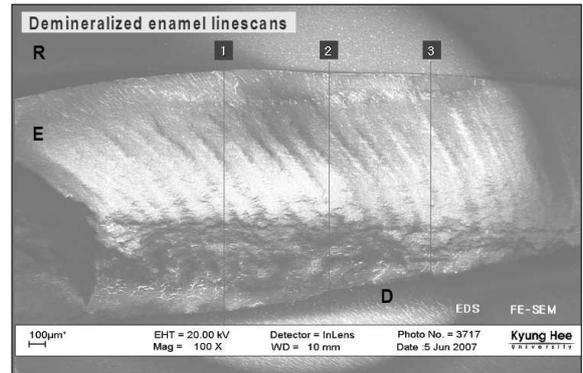


**Fig. 1.** Fabrication of the specimen.

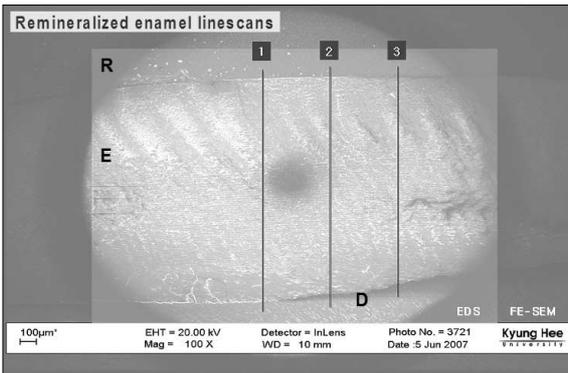
The enamel surface was covered with nail varnish to form a window on the middle 1/3 of buccal surface. The teeth were immersed in the demineralizing solution for 7 days. Tooth crown was sawn in half through the midline of buccal window along the long axis of premolar. The one blocks of premolar (test specimens) were immersed in the remineralizing solution for 1, 2, 3 and 5 wks, while the rest (control specimens) were immersed in a placebo solution for the same duration. Each specimen was embedded in epoxy resin, and was sectioned perpendicular to the window. The spectrum density indices of Ca & P were measured in the sound enamel, de- and remineralized enamel by FE-SEM and EDS.



**Fig. 2.** Linescan was performed by means of FE-SEM and EDS on the sound enamel.  
R: epoxy resin, E: enamel,  
D: dentin, Red line: Linescanned through the line from the top of enamel to dentin, Magnification: × 100.



**Fig. 3.** Linescan was performed by means of FE-SEM and EDS on the demineralized enamel.  
R: epoxy resin, E: enamel, D: dentin, Red lines 1, 2, and 3; Linescanned through the lines at 3 different areas from the top of enamel to dentin, Magnification: × 100.



**Fig. 4.** Linescan was performed by means of FE-SEM and EDS on the remineralized enamel.  
R: epoxy resin, E: enamel, D: dentin, Red lines 1, 2, and 3; Linescanned through the lines at 3 different areas from the top of enamel to dentin, Magnification: × 100.

재광화 용액으로는 CPP-ACP paste(Tooth Mousse, GC Corp., Tokyo, Japan)를 증류수에 10배 희석하여 사용하였으며, 대조군 용액으로는 증류수를 사용하였다.

## 2. 연구방법

Window가 형성된 모든 치아를 탈회용액 4mL에 각각 침지시켜 7일 동안 37°C incubator에서 탈회시켰고, 매 2일마다 새 용액으로 교환하였다. 탈회된 치아의 정중앙을 장축에 따라 절단한 후 새로운 절단면에 nail varnish를 도포하였다. 그 중 4개의 소구치 절편(실험군)은 37°C incubator에서 재광화 용액 4mL에 각각 1, 2, 3 및 5주 동안 침지시켰고, 나머지 4개의 소구치 절편(대조군)은 대조군 용액 4mL에 37°C incubator

에서 동일 기간 동안 침지시켰다. 재광화 및 대조군 용액은 매일 새 용액으로 교환하였다. 각 절편을 epoxy resin에 매몰하고, water-cooled diamond blade saw를 이용하여 window에 대해 수직적으로 잘라 각 시편을 약 1mm 두께로 하였다(Fig. 1).

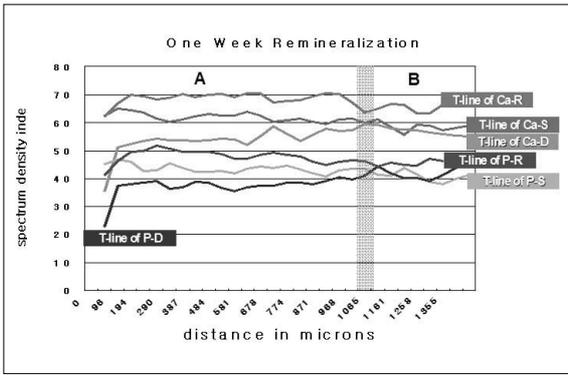
FE-SEM 과 EDS를 사용하여 건전 법랑질(nail varnish가 도포되어 있던 부위), 탈회 법랑질(대조군) 그리고 재광화 법랑질(실험군) 부위에서 약 50µm 간격의 깊이로 Ca/P의 SDI를 측정하였다(Fig. 2-4). 통계학적 유의성은 Student's t test를 사용하여 평가하였다. 건전 법랑질, 탈회 법랑질 그리고 재광화된 법랑질에서의 Ca/P의 SDI를 비교하고, 모든 재광화된 법랑질 간에 Ca/P의 SDI를 비교 평가하였다.

## Ⅲ. 연구 성적

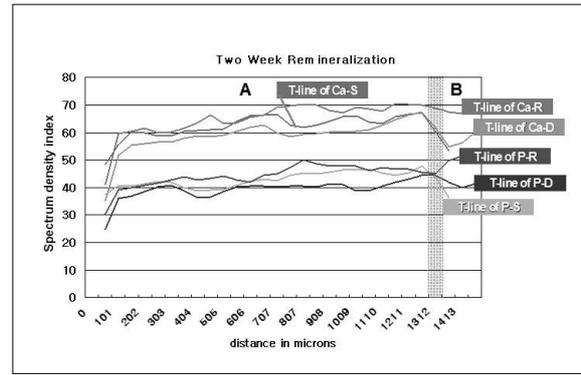
각각의 건전 법랑질, 탈회 법랑질 및 재광화 법랑질의 표면으로부터 수직으로 상아질을 향해 약 50µm간격으로 Ca/P의 SDI를 측정하여 추세선(T-line)으로 표시하였다(Fig. 5-8). 추세선에서 건전 법랑질과 탈회 법랑질의 SDI가 서로 비슷한 측정치를 나타내는 깊이(Fig. 5~8의 핑크색 점막대 부위)를 탈회된 깊이로 판단하였고, 재광화된 법랑질의 SDI가 탈회 법랑질 SDI와 유사한 경향을 보이기 시작한 깊이를 Ca/P 이온의 재광화 깊이로 평가하였다.

SDI 추세선에 나타나 있듯이 법랑질의 탈회 깊이는 1주군이 약 1050~1100 µm(Fig. 5), 2주군이 약1300~1350µm(Fig. 6), 3주군이 약1100~1150µm(Fig. 7), 그리고 5주군은 약 1050~1100µm(Fig. 8)로, 법랑질이 탈회된 깊이의 범위는 1050~1350µm 정도이다. 재광화 깊이는 모든 군에서 탈회 깊이와 유사하거나 좀 더 깊은 것으로 나타났다(Fig. 5-8).

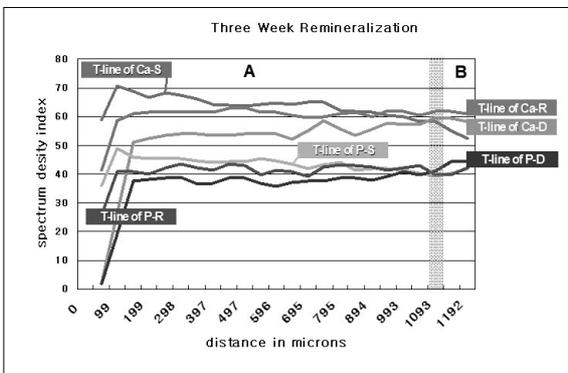
1, 2, 3 및 5주군 모두에서 탈회 법랑질의 깊이에 따른 Ca/P의 SDI는 재광화된 법랑질 및 건전 법랑질의 깊이에 따른



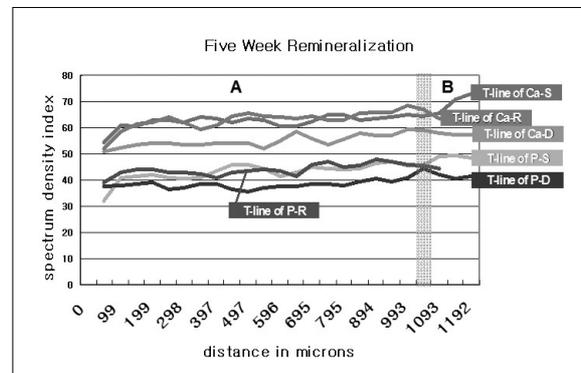
**Fig. 5.** Trend lines of mineral profiles found in one week remineralized enamel. Range of demineralized enamel depth is expressed as a pink dotted band(1050~1100  $\mu\text{m}$ ). T-line of Ca-S: trend line of calcium in sound enamel, T-line of Ca-R: trend line of calcium in remineralized enamel, T-line of Ca-D: trend line of calcium in demineralized enamel, T-line of P-S: trend line of phosphorus in sound enamel, T-line of P-R: trend line of phosphorus in remineralized enamel, T-line of P-D: trend line of phosphorus in demineralized enamel. A: Remineralized enamel zone, B: Sound enamel zone (undemineralized zone).



**Fig. 6.** Trend lines of mineral profiles found in two weeks remineralized enamel. Range of demineralized enamel depth is expressed as a pink dotted band (1300~1350  $\mu\text{m}$ ). T-line of Ca-S: trend line of calcium in sound enamel, T-line of Ca-R: trend line of calcium in remineralized enamel, T-line of Ca-D: trend line of calcium in demineralized enamel, T-line of P-S: trend line of phosphorus in sound enamel, T-line of P-R: trend line of phosphorus in remineralized enamel, T-line of P-D: trend line of phosphorus in demineralized enamel. A: Remineralized enamel zone, B: Sound enamel zone (undemineralized zone).



**Fig. 7.** Trend lines of mineral profiles found in three weeks remineralized enamel. Range of demineralized enamel depth is expressed as a pink dotted band (1100~1150  $\mu\text{m}$ ). T-line of Ca-S: trend line of calcium in sound enamel, T-line of Ca-R: trend line of calcium in remineralized enamel, T-line of Ca-D: trend line of calcium in demineralized enamel, T-line of P-S: trend line of phosphorus in sound enamel, T-line of P-R: trend line of phosphorus in remineralized enamel, T-line of P-D: trend line of phosphorus in demineralized enamel. A: Remineralized enamel zone, B: Sound enamel zone (undemineralized zone).



**Fig. 8.** Trend lines of mineral profiles found in five weeks remineralized enamel. Range of demineralized enamel depth is expressed as a pink dotted band (1050~1100  $\mu\text{m}$ ). T-line of Ca-S: trend line of calcium in sound enamel, T-line of Ca-R: trend line of calcium in remineralized enamel, T-line of Ca-D: trend line of calcium in demineralized enamel, T-line of P-S: trend line of phosphorus in sound enamel, T-line of P-R: trend line of phosphorus in remineralized enamel, T-line of P-D: trend line of phosphorus in demineralized enamel. A: Remineralized enamel zone, B: Sound enamel zone (undemineralized zone).

**Table 1.** SDI of Calcium and Phosphorus in Demineralized(D), Sound(S), and Remineralized(R) Enamel

Depth ( $\mu$ m)	1 week						2 weeks						3 weeks						5 weeks					
	Ca			P			Ca			P			Ca			P			Ca			P		
	D	S	R	D	S	R	D	S	R	D	S	R	D	S	R	D	S	R	D	S	R	D	S	R
0	22.0	58.0	62.0	11.0	44.0	41.0	22.0	46.0	23.0	15.0	34.0	23.0	0.5	50.0	26.0	1.2	22.0	12.0	48.9	47.0	50.0	35.1	23.0	35.0
50	48.9	67.2	62.3	35.1	46.5	41.9	48.1	50.9	59.3	34.7	40.7	37.7	3.7	68.2	56.6	2.7	50.5	39.2	53.4	62.1	54.2	39.6	40.8	42.7
100	53.4	63.0	71.6	39.6	47.1	50.8	55.5	60.4	59.9	37.3	40.9	40.3	48.9	72.9	60.8	35.1	47.3	42.5	51.5	60.2	63.1	36.6	41.2	43.5
150	51.5	65.9	68.3	36.6	44.9	48.0	55.2	9.6	61.3	36.7	40.2	39.5	53.4	64.6	61.6	39.6	45.0	39.1	55.3	61.1	60.4	40.3	42.0	44.5
200	55.3	61.5	70.3	40.3	40.7	52.0	56.9	60.1	61.9	40.5	42.4	42.2	51.5	68.6	61.3	36.6	45.9	40.9	52.8	65.1	63.9	37.7	42.2	43.1
250	52.8	61.5	66.4	37.7	45.1	51.9	56.0	57.2	57.7	40.0	41.9	41.0	55.3	68.0	61.4	40.3	45.1	43.5	54.8	60.7	63.7	34.9	39.9	43.0
300	54.8	59.5	71.3	34.9	45.6	49.1	57.2	60.2	62.7	41.5	42.3	44.5	52.8	66.9	61.6	37.7	45.9	43.9	52.6	63.3	59.9	38.9	41.4	43.1
350	52.6	62.5	68.9	38.9	42.2	50.4	58.8	60.8	60.5	35.9	37.6	42.9	54.8	65.1	62.1	34.9	43.2	40.7	54.4	64.7	58.6	38.5	40.5	42.4
400	54.8	61.8	69.1	38.5	43.0	48.6	58.5	60.7	66.5	36.5	39.9	42.4	52.6	63.3	60.7	38.9	44.7	42.1	53.2	62.1	63.0	38.7	46.3	40.1
450	53.2	64.2	70.7	38.7	42.3	50.8	58.4	61.0	65.8	36.6	38.2	44.3	54.4	64.4	65.2	38.5	44.1	45.3	55.2	62.2	66.5	34.7	45.8	5.7
500	55.2	61.0	69.5	34.7	43.3	46.7	59.6	61.3	60.6	40.2	40.6	44.4	53.2	63.0	61.4	38.7	44.7	40.7	52.6	64.5	64.7	36.6	45.7	41.5
550	52.6	64.0	68.6	36.6	40.3	47.3	61.1	67.2	66.5	40.0	40.8	41.4	55.2	65.7	61.2	34.7	46.2	38.7	51.7	61.3	64.7	37.5	43.5	46.4
600	51.7	63.9	72.4	37.5	46.6	47.4	62.8	64.6	64.6	40.9	43.6	42.5	52.6	63.3	61.7	36.6	43.5	44.0	58.5	60.2	63.4	37.5	39.9	40.3
650	58.5	60.7	68.7	37.5	42.0	49.9	62.3	68.2	67.9	40.1	42.6	46.7	51.7	65.6	58.8	37.5	43.5	37.1	58.8	61.1	63.8	37.2	46.5	42.9
700	58.8	60.3	66.1	37.2	46.0	48.7	57.5	65.1	70.4	40.3	42.5	43.4	58.5	64.3	60.8	37.5	40.4	41.8	52.9	64.1	65.4	40.1	43.3	48.6
750	52.9	61.5	69.4	40.1	43.1	48.0	59.5	60.2	69.2	40.5	46.3	51.1	58.8	65.5	59.5	37.2	46.3	43.4	54.0	66.1	61.1	37.0	46.0	45.8
800	54.0	61.3	66.7	37.0	43.4	47.9	59.5	63.6	71.6	40.5	44.3	49.0	52.9	58.6	62.5	40.1	41.3	43.2	57.3	64.4	65.4	39.0	42.4	43.9
850	57.3	59.5	72.2	39.0	40.2	44.3	59.8	61.9	68.4	39.7	45.6	48.5	54.0	64.8	60.6	37.0	41.7	42.4	58.4	62.0	66.1	39.6	46.9	47.4
900	58.4	59.6	69.1	39.6	41.2	45.5	60.4	66.1	67.9	42.9	45.5	46.9	57.3	57.9	59.5	39.0	41.7	42.5	55.6	64.8	65.7	41.6	46.2	48.2
950	55.6	62.5	71.4	41.6	44.9	46.3	60.1	65.4	66.5	39.0	47.1	49.6	58.4	62.7	64.6	39.6	41.7	40.5	58.8	62.9	66.7	37.8	47.4	45.4
1000	58.8	60.3	63.4	37.8	42.0	46.9	60.8	66.4	71.5	38.5	45.5	46.3	55.6	57.0	59.1	41.6	41.1	43.9	60.3	66.7	70.4	44.1	43.2	46.7
1050	60.3	60.0	63.4	44.1	45.0	45.8	60.9	60.9	65.3	39.4	47.9	45.6	58.8	59.1	61.3	37.8	39.6	41.5	58.2	62.5	63.4	44.8	48.2	44.5

**Table 2.** Statistical analysis of SDI of Calcium and Phosphorus in Demineralized(D), Sound(S), and Remineralized(R) Enamel

Depth ( $\mu$ m)	1 week						2 weeks						3 weeks						5 weeks					
	Ca			P			Ca			P			Ca			P			Ca			P		
	D**	S	R**	D**	S	R**	D**	S	R	D**	S	R	D**	S**	R	D**	S**	R	D**	S	R	D**	S	R

\*\* : p<0.05

Ca/P의 SDI보다 유의성 있게 낮게 나타났(p<0.05). 또한 1주군과 2주군의 재광화된 법랑질의 SDI는 건전 법랑질의 SDI보다 유의성 있게 높게 나타났(p<0.05). 그러나 3주군에서는 재광화된 법랑질의 SDI 측정값이 건전 법랑질보다 유의성 있게 낮았다(p<0.05). 이에 비해 5주군에서는 재광화된 법랑질의 SDI는 건전 법랑질의 SDI와 유의한 차이가 없었다(Table 1, 2).

재광화된 법랑질과 탈회된 법랑질 사이의 Ca/P의 SDI의 차이가 낮은 CPP-ACP에 의해 침투된 Ca/P 이온의 상대적 정량값이라 할 수 있다. 1주군의 재광화된 법랑질과 탈회된 법랑질 간의 Ca/P의 SDI의 차이 값이 2주군, 3주군 및 5주군에 비해 유의성 있게 높게 나타났고(p<0.05), 2주군, 3주군 및 5주군 사이에는 유의한 차이가 없었다(Table 3, 4).

### Ⅲ. 총괄 및 고찰

CPP-ACP는 paste 형태 뿐만 아니라 구강 세척액, 정제, 무설탕 껌과 같이 다양한 형태로 제공된다<sup>3)</sup>. Reynolds(2003)등<sup>7)</sup>은 구강 세척액 형태로 제공되는 CPP-ACP는 CPP를 치태 내 박테리아 표면과 타액 피막에 부착시켜 치은 연상 치태의 calcium과 inorganic phosphate ion의 수준을 유의성 있게 증가시킨다고 보고한 바 있다. CPP-ACP가 paste 형태로 제공되면, 환자들은 이것을 칫솔과 함께 치약처럼 구강 위생 용품으로서 사용하거나 면봉을 이용하여 사용할 수 있다<sup>3)</sup>. 임상적으로는 집에서 시행하는 치아미백 동안 치아 민감성이 나타날 경우 CPP-ACP paste를 미백 트레이에 적용하여 사용하면 재광화에 의해 치아 민감성을 줄일 수 있으며, 치아 침식을 방지하기

**Table 3.** SDI of Calcium and Phosphorus between Remineralized and Demineralized Enamel

Depth (μm)	1 week		2 weeks		3 weeks		5 weeks	
	Ca	P	Ca	P	Ca	P	Ca	P
0	40.0	30.0	1.0	8.0	25.5	10.8	1.1	-0.1
50	13.4	6.8	11.2	3.0	52.6	36.4	0.7	3.0
100	18.2	11.2	4.5	3.0	11.9	7.3	11.5	6.9
150	16.9	11.4	6.1	2.8	8.2	-0.6	5.0	4.1
200	15.0	11.7	5.0	1.7	9.7	4.3	11.1	5.3
250	13.6	14.2	1.7	1.0	6.0	3.1	8.9	8.1
300	16.5	14.2	5.6	3.0	8.8	6.2	7.3	4.1
350	16.3	11.5	1.7	7.0	7.2	5.8	4.2	3.8
400	14.7	10.1	8.1	5.8	8.1	3.1	9.8	1.3
450	17.5	12.1	7.5	7.6	10.7	6.7	11.2	11.0
500	14.3	12.0	1.0	4.2	8.1	2.0	12.1	4.9
550	16.0	10.7	5.5	1.3	5.9	4.0	13.0	8.8
600	20.7	9.9	1.8	1.6	9.1	7.4	4.8	2.7
650	10.2	12.4	5.7	6.7	7.1	-0.5	5.0	5.7
700	7.3	11.5	12.8	3.1	2.3	4.3	12.4	8.5
750	16.4	7.9	9.7	10.5	0.6	6.1	7.0	8.8
800	12.7	10.9	12.2	8.6	9.5	3.0	8.0	4.9
850	10.7	5.9	8.6	8.8	6.6	5.4	7.7	7.8
900	15.8	4.7	7.5	4.0	2.2	3.5	10.1	6.6
950	4.6	9.1	6.4	10.6	6.2	0.9	7.9	7.6
1000	3.1	1.7	10.7	7.8	3.5	2.3	10.1	2.6
1050	8.5	-2.1	4.4	6.2	2.5	3.7	5.2	-0.3

**Table 4.** Statistical analysis of SDI of Calcium and Phosphorus between Remineralized and Demineralized Enamel

Depth (μm)	1 week		2 weeks		3 weeks		5 weeks	
	Ca**	P**	Ca	P	Ca	P	Ca	P

\*\* : p<0.05

위한 방법으로도 많이 적용되고 있다<sup>3)</sup>. Shen(2001) 등<sup>11)</sup>과 Lijima(2003) 등<sup>12)</sup>은 CPP-ACP의 함유한 무설탕 껌에 의한 재광화 연구를 생체에서 실험 한 결과 CPP-ACP가 들어 있지 않은 껌에 비해 CPP-ACP를 함유한 껌에서 법랑질의 재광화 비율이 유의성 있게 증가한다고 보고하였다. 또한 Lijima 등<sup>12)</sup>은 CPP-ACP에 의해 재광화된 법랑질이 산에 대하여 더 큰 저항성을 가진다고 보고하였다. Cai(2003) 등<sup>13)</sup>은 CPP-ACP가 들어있는 정제로 법랑질 재광화 연구를 생체에서 시행한 결과 정제 역시 CPP-ACP의 법랑질 재광화를 가능하게 하는 수단이 될 수 있다고 보고하였다.

Reynolds(1997)<sup>8)</sup>는 사람의 치아에 CPP로 안정화된 calcium phosphate solution을 적용한 시편을 microradiography로 촬영하고 microphotometry를 이용하여 무기질의 체적비율로 환산하는 방법과 SEM 및 EDS(Energy Dispersive Spectroscopy)를 사용하여 Ca/P의 체적비율을 건전, 탈회 및

재광화 법랑질에서 측정하는 방법으로 80~110μm의 탈회 깊이와 최대 63.9%의 재광화를 그리고 Ca/P의 상대적 체적비율의 증가를 보고하였다. 또한 Shen<sup>11)</sup>등과 Cai<sup>13)</sup>등도 microradiography와 무기질의 densitometric profile를 이용하여 CPP-ACP의 재광화 정도를 무기질의 체적 비율을 평가하여, 각각 152%, 176%의 재광화률을 보고하였다. 앞서 살펴본 연구들은 모두 CPP-ACP를 적용한 시간이 다양하지 않았고, 법랑질의 재광화 정도를 무기질 또는 Ca/P의 상대적 체적비율로만 보고하여 적용 시간에 따른 재광화 경향과 재광화 깊이, 그리고 재광화 성분의 정량적 분석이 부족하였다.

본 연구는 탈회된 법랑질에서 CPP-ACP에 의해 공급된 Ca/P 이온의 시간에 따른 재광화 깊이와 침투된 Ca/P 이온의 상대적 정량값을 측정하기 위해 Reynolds<sup>8)</sup>가 pH4.8로 조절된 0.1M lactic acid에서 4일간 침치시켜 얻은 약 80~110μm의 법랑질 탈회 깊이보다 깊은 탈회 깊이가 요구되어 동일 조건에

서 7일간 탈회 용액에 침지하여 1050~1350 $\mu$ m의 탈회 깊이를 얻었다. 그리고 Ca/P 이온의 침투 깊이를 측정하기 위해 SEM 및 EDS를 사용하여 50 $\mu$ m 깊이마다 Ca/P의 SDI를 계측하여 상대적 정량분석을 시행하였다. 그 결과 1주일의 CPP-ACP 적용으로도 1350 $\mu$ m이상의 Ca/P 이온의 침투 깊이를 얻을 수 있었다.

Figs 5~8 에 나타난 Ca/P의 SDI 추세선은 탈회 깊이 영역을 나타내는 추세선 상의 핑크색 점막대를 경계로 하여 대략적으로 2개의 영역으로 구분하여 볼 수 있는데 (A)는 재광화 법랑질 영역(Remineralized enamel zone)으로서 Ca/P의 재광화 추세선이 건전법랑질 추세선보다 상방에 위치하는 경향을 보인다. 특히 1주군 과 2주군에서 그 경향성이 뚜렷게 나타난다. (B)는 건전 법랑질 영역(Sound enamel zone 또는 undemineralized zone)으로의 재광화 추세선이 건전법랑질 추세선과 유사한 경향을 보인다. 이것은 Ca/P의 침투량이 (B)영역의 시작 경계부터 감소 경향이 나타나는 것으로 생각할 수 있다. 따라서 CPP-ACP 에 의한 Ca/P 이온의 침투 깊이는 탈회된 법랑질 깊이와 관련성이 있다 판단된다.

Table 1에서의 SDI 측정치의 고찰을 통해 전 기간에 걸쳐 탈회 법랑질의 Ca/P의 SDI는 건전 법랑질의 Ca/P의 SDI보다 유의성 있게 낮게 나타났음을 알 수 있다(p<0.05). 그리고, 1주군 과 2주군에서는 재광화 법랑질의 Ca/P의 SDI는 건전 법랑질의 Ca/P의 SDI보다 유의성 있게 높게 나타났으나(p<0.05) 3주군에서는 오히려 재광화 법랑질의 Ca/P의 SDI는 건전 법랑질의 Ca/P의 SDI보다 유의성 있게 낮게 나타났고(p<0.05), 5주에서는 둘 사이에 유의성 있는 차이가 없었다.

Table 2는 기간에 따른 Ca/P의 침투량을 상대적으로 보여주고 있다. 1주군을 2주군, 3주군 및 5주군과 비교했을 때 침투량이 유의성 있게 높게 나타났으나(p<0.05) 기간에 따른 침투량의 차이는 통계학적 유의성을 보이지 않았다(p>0.05). Table 1 과 2의 결과를 종합해 보면, 1주군과 2주군 동안 과잉으로 침투한 Ca/P가 법랑질 표면에서 평형상태를 유지하기 위해 3주군에서는 Ca/P의 용출이 일어나 SDI의 현저한 감소가 나타나고, 5주군에서는 Ca/P의 재침투로 재광화 법랑질의 SDI와 건전 법랑질의 SDI가 유사하게 나타난 것이라고 할 수 있다.

본 연구는 CPP-ACP 에 의해 제공되는 Ca/P가 인공적으로 형성된 치아 우식 병소에서 탈회된 법랑질을 재광화 시키는 깊이에 대한 의미 있는 결과를 얻을 수 있었다고 판단되지만 Ca/P의 침투량에 있어서의 정확한 정량화에는 미치지 못했다. CPP-ACP의 적용 기간에 따른 Ca/P의 침투량의 정확한 정량화는 임상적으로 적절한 적용 기간 및 방법에 있어 의미 있으리라 생각된다. 이번 연구는 Ca/P의 침투깊이에서 탈회 깊이 (1350 $\mu$ m)와 유사하거나 넘어서는 결과를 나타냈고, 이것은 더 깊은 탈회 법랑질에서의 CPP-ACP의 재광화 가능성을 시사하는 결과이다. 따라서 1350 $\mu$ m 이상의 법랑질의 탈회 깊이에서 CPP-ACP의 재광화 깊이를 측정하는 연구가 필요하겠다. 더 나아가 CPP-ACP에 의해 재광화된 법랑질의 표면 경도의 변화

에 대한 연구 및 Ca/P의 침투량의 정량적 분석을 통해 치아 우식 예방에 있어 이론적 근거를 마련해야 하겠다.

#### IV. 결 론

이 연구에서는 CPP-ACP에 의해 Ca/P 이온이 탈회된 법랑질 표면에 적용된 시간에 따라 침투되는 깊이와 재광화된 법랑질에 침투한 Ca/P의 상대적 정량값을 측정하고자 하였다.

건전 법랑질, 탈회된 법랑질 및 재광화된 법랑질의 깊이에 따른 Ca/P의 Spectrum Density Index(SDI)를 계측, 비교 평가하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. CPP-ACP에 의해 제공된 Ca/P 이온은 탈회된 법랑질 표면으로부터 약 1050~1400 $\mu$ m까지 침투하여 탈회 법랑질의 깊이인 1050~1350 $\mu$ m까지 재광화가 이루어졌다.
2. 1주군과 2주군의 재광화된 법랑질의 Ca/P SDI는 건전 법랑질보다 유의성 있게 높았으나(p<0.05), 3주군에서는 건전 법랑질보다 유의하게 낮았고(p<0.05), 5주군은 건전 법랑질과 유의한 차이가 없었다(p>0.05).
3. 모든 재광화된 법랑질 간에 Ca/P의 SDI는 유의한 차이가 없었다(p>0.05).

#### 참고문헌

1. Featherstone JD : The science and practice of caries prevention. J AM Dent Assoc, 131:887-899, 2000.
2. Featherstone JD : The continuum of dental caries-evidence for a dynamic disease process. J Dent Res, 83:C39-C42, 2004.
3. Yamaguchi K, Miyazaki M, Takamizawa T, et al. : Effect of CPP-ACP paste on mechanical properties of bovine enamel as determined by an ultrasonic device. J Dent, 34(3):230-236, 2006.
4. Reynolds EC, Johnson IH : Effect of milk on caries incidence and bacterial composition of dental plaque in the rat. Arch Oral Biol, 26:445-451, 1981.
5. Harper DS, Osborn JC, Hefferren JJ, et al. : Cariostatic evaluation of cheeses with diverse physical and compositional characteristics. Caries Res, 20:123-130, 1986.
6. Silva MFdeA, Burgess RC, Sandham HJ, et al. : Effects of water-soluble components of cheese on experimental caries in humans. J Dent Res, 66:38-41, 1987.
7. Reynolds EC, Cai F, Shen P, Walker GD : Retention in plaque and remineralization of enamel lesions by various forms of calcium in a mouthrinse or sugar-free chewing gum. J Dent Res, 82:206-211, 2003.

8. Reynolds EC : Remineralization of enamel subsurface lesions by casein phosphopeptide-stabilized calcium phosphate solutions. *J Dent Res*, 76:1587-1595, 1997.
9. Reynolds EC, Cain CJ, Weber FL, et al. : Anticariogenicity of calcium phosphate complexes of tryptic casein phosphopeptides in the rat. *J Dent Res*, 74:1272-1279, 1995.
10. Reynolds EC, Black CL, Cai F, et al. : Advances in enamel remineralization: casein phosphopeptides-amorphous calcium phosphate. *J Clin Dent*, 10:86-88, 1999.
11. Shen P, Cai F, Nowicki A, et al. : Remineralization of enamel subsurface lesions by surgar-free chewing gum containing casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate. *J Dent Res*, 80(12):2066-2070, 2001.
12. Lijima Y, Cai F, Shen P, et al. : Acid resistance of enamel subsurface lesions remineralized by a surgar-free chewing gum containing casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate. *Caries Res*, 38:551-556, 2004.
13. Cai F, Shen P, Morgan MV, et al. : Remineralization of enamel subsurface lesions in situ by surgar-free lozenges containing casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate. *Aust Dent J*, 48:240-243, 2003.
14. de Rooij JF, Nancollas CH : The formation and remineralization of artificial white spot lesions: A constant composition approach. *J Dent Res*, 63:864-867, 1984.

## Abstract

### REMINERALIZATION DEPTH OF CPP-ACP ON DEMINERALIZATION HUMAN ENAMEL *IN VITRO*

Han Ju Choi, Yeong Chul Choi, Kwang-Chul Kim, Sung-Chul Choi

*Department of Pediatric Dentistry and Institute of Oral Biology, School of Dentistry, Kyung Hee University*

Many studies regarding Casein phosphopeptides-amorphous calcium phosphate(CPP-ACP) have demonstrated the remineralization ability on the demineralized enamel surface. A question is still remained that how deep can the calcium (Ca) and phosphorus (P) ions supplied by the CPP-ACP paste penetrate into the enamel subsurface. The aims of this study were to measure the penetrating depth of Ca and P ions in the demineralized human enamel *in vitro*, and were to determine the amount and depth of Ca and P ions according to the duration. The amount and depth of Ca and P ions were measured by microscopic observation with Field Emission Scanning Electron Microscopy (FE-SEM; LEO SUPRA 55, Carl Zeiss, Germany) and Energy Dispersive X-ray Spectrometer (EDS; GENESIS 2000, EDAX, USA: Linescan of Calcium and Phosphorus).

Freshly extracted four human 1st premolars were obtained from the Dept. of Pediatric Dent., Kyung Hee Univ. Buccal surfaces of the 1st premolars were covered with nail varnish to form a window on the middle third of buccal surface. All of the teeth with enamel windows were immersed in a solution of 0.1 M lactic acid, Carbopol C907 (carboxypolymethylene BF Goodrich, Cleveland, OH, USA) at pH 4.8, and then incubated for 7 days. Each tooth crown was sawn in half through the midline of buccal window along the long axis of premolar. The four blocks of premolars were immersed in a 10-times diluted solution of CPP-ACP paste (Tooth Mousse, GC Corp., Tokyo, Japan) for 1, 2, 3 and 5 weeks while the rests were immersed in a placebo solution (distilled water) for the same duration. Each specimen was embedded in epoxy resin, and was sectioned perpendicular to the window, using a water-cooled diamond blade saw. The spectrum density indices of Ca and P were measured in the sound, de- and remineralized enamels by FE-SEM and EDS. The Student's t test was performed to compare the Spectrum Density Indices (SDI) of sound, re- and demineralized enamels, and to compare the differences among the durations.

Followings are the conclusion :

1. The penetration depth of the remineralizing ions (Ca & P) of CPP-ACP paste is related to the depth of demineralized enamel (approximately 1050~1350  $\mu\text{m}$ ). It is revealed that the penetration depth of both ions reaches full thickness of decalcification and even slightly into the sound enamel.
2. The Ca & P levels of remineralized enamels in 1, 2 weeks were significantly higher than those of the sound enamels ( $p < 0.05$ ).
3. No statistically significant difference of Ca & P levels was found in relation with the increasing duration of remineralization ( $p > 0.05$ ).

**Key words** : CPP-ACP, FE-SEM, Remineralization, Premolar