

수종의 유기산이 법랑질 인공우식의 형성에 미치는 영향

연세대학교 치과대학 치과보존학교실

금기연 · 이찬영

Abstract

THE EFFECT OF FOUR KINDS OF ACID AND CONCENTRATION ON THE FORMATION OF ARTIFICIAL CARIOUS LESION IN HUMAN TOOTH ENAMEL

Kee-Yeon Kum, D.D.S., M.S.D., Chan-Young Lee, D.D.S., M.S.D., D.D.Sc.

Department of Conservative Dentistry, College of Dentistry, Yonsei University

The end products of the metabolism of the oral microorganism, organic acids, are an element that produces dental caries. Four organic acids in plaque fluid, lactic acid, acetic acid, succinic acid, propionic acid which take the important role in producing dental caries, were chosen to evaluate the effect of acid type and concentration. The subject, 100 μ m in thickness, were immersed in acid-buffer solution which has the different acid concentration of 10mM, 25mM, 50mM, 100mM and pH 4.3 and degree of saturation was 0.153 ± 0.003 kept in constant and were operated to produce artificial caries under different demineralization time (1, 2, 3 day) at x25.

The results were obtained by observing under polarizing microscope at x25.

1. The subsurface lesion, specific finding of incipient enamel caries, showed positive birefringence. but surface zone and sound enamel showed negative birefringence.
2. The demineralization rate of enamel was increased as the acid concentration increased.
3. The subsurface lesion showed increasing depth in the order of lactic, acetic, propionic acid, succinic acid.
4. The concentration of organic acid in artificial caries system had an independent effect on demineralization rate in enamel under the constant pH and degree of saturation.

The result of this study showed that not only pH and the acid strength but the concentration of organic acid had an independent effect on demineralization rate in early enamel caries. And through the further research on the factors influencing enamel demineralization, it will be necessary to develop an effective caries preventive therapy.

Key Words : Subsurface lesion, pH, degree of saturation, birefringence, artificial caries

I. 서 론

치아탈회는 치태내 세균에 의한 대사의 최종산물인 유기산이 법랑질 표면과 접촉하면 초기에는 interprismatic space³⁵⁾로 침투하게 되고 점차 intercrystallite pathway⁷⁰⁾를 거쳐 hydroxyapatite를 녹이게 되고 칼슘과 인이온을 유리시켜 밖으로 내 보냄으로써 시작된다.

이러한 초기 법랑질우식의 가장 현저한 소견은 비교적 광물질 소실이 적은 건전표층 (surface zone)과 광물질 소실이 주로 일어나는 우식 표면하층 (subsurface lesion)의 형성이라는 특징적인 병소형태에 있다⁶⁹⁾.

이러한 병소의 생성기전에 대하여 학자들간에 법랑질 자체의 화학적 특성⁹⁾이나 억제인자¹³⁾, pellicle²¹⁾의 존재 혹은 탈회와 재침착 사이에서 발생하는 동역학적인 기전⁷¹⁾으로 설명하고 있으며, 이러한 이론들에 기초하여 초기 인공우식 형성에 영향을 미치는 인자들에 관하여 Englander 등¹⁹⁾은 lactic acid는 치아우식을 유발하는 치태의 주요 대사산물이며 치태의 우식원성을 측정하는 기준으로 pH를 사용하였고, Margolis^{45, 46)}는 동역학적인 기전에 입각한 인공우식 실험에서 법랑질 탈회율을 pH만으로 평가하는 것은 적절하지 못하며 법랑질 무기물에 대한 탈회용액의 saturation level인 포화도 (degree of saturation)에 의하여 가장 잘 나타낼 수 있다고 하였다.

Moreno와 Margolis⁵⁰⁾도 완충용액의 법랑질에 대한 칼슘, 인 등의 포화도에 의하여 우식 표면하층의 생성여부가 결정되며 탈회시간이 길수록 병소깊이가 증가한다고 보고하였고,

Gray 등²⁷⁾은 광물질 소실은 유기산의 비이온화된 형태의 농도 및 pH, 산해리 상수와 상관성이 있음을 보고하였으며, Theuns⁷⁵⁾는 법랑질 탈회율은 pH뿐 아니라 유기산의 비이온화된 형태의 농도에도 의존하며, plaque fluid의 구성성분을 규명하면 치태의 우식원성을 평가하는데 효과적이라고 하였다. Kapur³⁷⁾는 법랑질 탈회와 산의 종류, pH, 농도, 포화도 등의 변수와의 상관성을 조사한 연구에서 탈회된 병소깊이는 산의 농도에 비례하여 증가되었으나, 포화도는 별 영향이 없었으며 유기산의 비이온화된 형태의 농도가 탈회에 관여한다고 보고하였다.

최근에 Tyler와 Gedess 등²⁵⁾은 plaque fluid의 정량 및 정성 분석을 통하여 lactic acid이외의 다른 유기산들도 소량 존재하며 이들도 치아우식에 관여할 것이라 보고하였고, Margolis⁴⁴⁾은 plaque fluid를 구성하는 네 가지 주요 유기산으로 lactic acid, acetic acid, propionic acid, succinic acid를 보고하였으며 이들의 상대적인 양, pH, 칼슘 및 인의 농도가 우식병소의 진행에 중요한 역할을 한다고 주장하였다. Minah와 Roesche⁵²⁾는 치태내에서 합성되는 유기산들의 종류와 상대적 양에 의하여 우식 진행율이 결정된다고 하였고, Gedess 등²⁵⁾은 lactic, acetic, propionic acid는 sugar대사 과정에서 생기는 주요 대사물이며 이러한 유기산의 종류와 비율은 세균 집락의 구성과 대사 환경에 의존한다고 하였으며, plaque fluid내의 이들 유기산의 비율이 대략 2.5 : 1 : 1로 구성된다고 보고하였다. Featherstone과 Rodgers²⁴⁾은 우식병소의 진행률은 pH 단독변수보다는

산의 종류에 따라 고유한 산해리 상수 및 비이온화된 형태의 농도와 상관성이 있으며, acetic acid ($pK_a=4.76$ at $25^\circ C$)가 lactic acid ($pK_a=3.86$ at $25^\circ C$) 보다 약산임에도 불구하고 동일 조건에서 비이온화된 형태의 산의 농도가 3 배정도 많이 형성되어 동일한 우식병소를 형성하는데 수 배 낮은 농도로도 가능할 수 있다고 하였는데, 만일 이것이 사실이라면 비슷한 산도의 succinic acid ($pK_a=4.21/5.26$ at $25^\circ C$)와 propionic acid ($pK_a=4.87$ at $25^\circ C$) 등도 우식과정에 있어 중요한 역할을 할 수 있을 것으로 생각된다.

이상에서와 같이 초기 우식병소의 조직학적인 특징인 우식 표면하층의 생성과 그 진행에 미치는 인자가운데 완충용액의 pH 나 포화도에 관한 연구는 상당히 진행되고 있으나 유기산의 종류나 농도가 법랑질 탈회에 미치는 역할에 대해서는 국내외적으로 아직 그 연구가 활발하지 못한 실정이다.

따라서 본 연구는 plaque fluid를 구성하고 있는 주요 유기산인 lactic, acetic, succinic, propionic acid들이 초기 우식병소의 생성과 진행에 미치는 상대적인 영향을 평가하고자 pH와 포화도를 고정시키고 이들 유기산의 농도를 달리한 완충용액을 제조하여 법랑질 인공우식의 형성에 미치는 효과를 편광현미경을 관찰하여 비교평가 하고자 하였다.

II. 실험재료 및 방법

1. 실험재료 및 시편제작

발치후 30일 이내의 백색반점이나 법랑질의 결손이 없는 영구치를 선별하여 0.5% 클로로포름용액에 보관하였다가 치아에 부착된 물질을 우선 물리적으로 제거한 후, 불소가 포함되지 않은 pumice로 치면을 충분히 연마하고 초음파 세척기에서 10 분간 세정하고 증류수로 다시 세척 건조하였다.

건조된 치아는 5 ml용 실린지를 이용하여 높이 2 cm, 직경 1 cm의 tube를 만들고 치과용 아크릴레진을 이용하여 치근부위만 매몰하고 경화후 low speed diamond wheel saw (South

Bay Technology, U. S. A.)를 이용하여 치아의 장축에 평행하게 400-500 μm 의 절편을 만든 다음 #800 사포를 이용하여 100 μm 두께로 연마하였다.

연마된 시편은 협설면이나 교합면쪽의 손상이나 균열이 없는 부위중 3 mm 정도의 window를 제외한 나머지 부위는 내산성의 nail varnish를 도포하고 양 측면은 bonding agent (Scotchbond[®])로 광중합시켰다.

2. 탈회 완충용액의 제조

Stock solution 으로 1 M의 lactic acid, acetic acid, propionic acid, succinic acid 및 0.3 M 칼슘과 0.9 M 인이온의 농도를 얻기 위하여 각각 30% lactic acid (SIGMA), acetic acid (SIGMA), propionic acid (SIGMA), succinic acid (SIGMA) 및 $CaCl_2$ 분말 (SIGMA), KH_2PO_4 분말 (SIGMA)로 부터 정확한 양을 계산하여 조제하고 제조된 산용액은 standard 1 N KOH 용액을 적정액으로 하고 페놀프탈레인을 지시약으로 사용하여 각 산의 stock solution 농도를 정확히 계산하였고, 칼슘과 인이온은 자동분석기(Hitachi 741-19, Japan)를 이용하여 정량분석하였다. 실험군은 산의 종류에 따라 lactic acid, acetic acid, propionic acid, succinic acid 군으로 나누고 다시 각 산은 농도에 따라 10 mM, 25 mM, 50 mM, 100 mM 군으로 나누었으며 우식병소가 가장 잘 형성되는 포화도를 유지하기 위하여 필요한 칼슘, 인, 유기산의 양을 계산하여 stock solution으로부터 취한 다음 pH 4.3이 되도록 8 N KOH 를 이용하여 500 ml의 working solution 을 만들고 이 용액을 다시 정량분석하여 initial demineralization solution으로 사용하였다(Table 1 - Table 4). 각 군은 산의 농도에 따라 10개 시편씩 40 개를 한 군으로하여 총 160개의 시편을 사용하였다.

3. 제조된 완충액을 이용한 인공 치아우식의 실험

50 ml 플라스틱 통에 제조된 완충액을 채우고 시편은 완충액의 중앙에 오도록 고정하고 밀

Table 1. The composition of the initial demineralization solution using lactic acid

Group		10 mM	25 mM	50 mM	100 mM
Lactic acid	(mM)	10	25	50	100
Calcium	(mM)	9.1	10.2	10.6	15
Phosphate	(mM)	3.9	5.9	7.7	9
Sodium azide	(mM)	3.08	3.08	3.08	3.08
pH		4.3	4.3	4.3	4.3

Table 2. The composition of the initial demineralization solution using acetic acid

Group		10 mM	25 mM	50 mM	100 mM
Acetic acid	(mM)	10	25	50	100
Calcium	(mM)	8.3	9.5	9.7	12.4
Phosphate	(mM)	5	4.0	5.0	5.0
Sodium azide	(mM)	3.08	3.08	3.08	3.08
pH		4.3	4.3	4.3	4.3

Table 3. The composition of the initial demineralization solution using succinic acid

Group		10 mM	25 mM	50 mM	100 mM
Succinic acid	(mM)	10	25	50	100
Calcium	(mM)	8.4	8.9	10.6	11
Phosphate	(mM)	5	4.8	4.2	5.6
Sodium azide	(mM)	3.08	3.08	3.08	3.08
pH		4.3	4.3	4.3	4.3

Table 4. The composition of the initial demineralization solution using propionic acid

Group		10 mM	25 mM	50 mM	100 mM
Propionic acid	(mM)	10	25	50	100
Calcium	(mM)	8.7	8.7	9.6	10.1
Phosphate	(mM)	4	4.3	3.8	4.8
Sodium azide	(mM)	3.08	3.08	3.08	3.08
pH		4.3	4.3	4.3	4.3

봉한 후 25°C 항온조에서 각각 1일, 2일, 3일간 완충액속에 보관하였다.

4. 편광현미경 관찰 및 우식 표면하층의 깊이 측정

각 1일, 2일, 3일마다 완충액에서 꺼낸 시

편은 증류수로 침윤시킨 상태에서 25 배율로 편광현미경을 관찰하여 사진을 촬영하고 현상후 표면에서부터 positive birefringent zone의 끝까지 수직길이를 임의의 각기 다른 지점에서 다섯 부위를 선택한 후 현미경에 부착된 micro-meter 를 이용하여 병소깊이를 측정하고 평균을

산출하였다.

III. 실험 결과

1. 편광현미경 관찰

시편을 증류수에 침적시켜 25 배로 관찰한 결과 우식 표면하층은 노란색 혹은 황갈색의 양성복굴절 (positive birefringence)을, 건전 표층은 정상법랑질과 같은 음성복굴절 (negative birefringence)을 나타내었다(Fig. 5, 6). 병소본체는 탈회증가로 정상 법랑질에 비해 Retzius 선조가 뚜렷하였고 탈회된 가장자리는 전반적으로 매끄러웠으며(Fig. 6, 8), 법랑질 표면에 평행하게 일정한 깊이를 유지하는 연속적인(Fig. 5, 7, 8) 혹은 불연속적인 병소가 관찰되었고 불연속적인 병소에서는 우식이 Hunter-Schreger band를 따라 형성된 것같은 양상으로 관찰되었다(Fig. 9).

건전표층은 유기산의 농도나 탈회시간의 변화에 관계없이 거의 일정한 두께로 관찰되었으며(Fig. 5, 6), 일부에서는 건전표층이 없거나 희미하게 erosion양상으로 관찰되기도 하였다(Fig. 7, 8). 특히 succinic acid의 100 mM 군에서는 모든 시편에서 와동의 저부에 다시 subsurface lesion으로 보이는 현상이 관찰되었으며(Fig. 10, 11), 전체적으로 형성된 변화들인 cavity, subsurface lesion, erosion 등은 시간이 지남에 따라 더 깊어졌으며, 병소가 생기지 않은 일부 시편에서는 전혀 변화가 없었고(Fig. 12), 동일군에서도 모든 시편이 같은 변화를 나타내지 않았으며 병소본체 하방으로 암층 (dark zone)과 투명층 (translucent zone)의 소견은 관찰되지 않았다. 각 유기산의 농도 및 탈회시간의 변화에 따라 형성된 시편의 병소형태는 Table 5와 같다.

2. 우식 표면층과 우식 표면하층의 깊이 측정

모든 유기산에서 산의 농도가 낮은 10 mM, 25 mM 군은 탈회시간이 길어져도 병소깊이가 뚜렷하게 증가되지 않았지만, 50 mM 및 100

mM 군에서는 탈회시간이 증가함에 따라 병소 깊이가 현저히 진행되었고, 전반적으로는 완충용액에 오래 노출될수록 형성된 우식병소의 깊이는 증가되었다. 관찰된 건전표층의 두께는 8 μ m 이하로 완충액의 농도나 탈회시간과 관계 없이 일정하였으며(Fig. 5, 6), 각 유기산의 농도 및 탈회시간에 따라 측정된 표층하 탈회의 병소깊이는 lactic, acetic, propionic, succinic acid의 순으로 증가하였다(Table 6, Fig. 1-Fig. 4).

IV. 총괄 및 고찰

치아탈회는 치태내 세균의 대사과정에서 생산된 유기산이 치아면에 접촉하면 초기에 interprismatic space로부터 시작하여 점차 intercrystalline pore를 거쳐 hydroxyapatite를 녹임으로써 이루어지는데, 이 과정은 치아면에서 집락을 형성하는 세균들의 종류와 상대적인 양뿐만 아니라 법랑질의 화학적인 특성을 포함하는 매우 역동적인 현상으로 이러한 초기 치아우식은 건전한 표면층 하방에 특징적인 표층하 병소를 형성하는 것으로 알려져 있다.

법랑질의 무기물의 구성은 기본적으로 hydroxyapatite($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$)로 되어있고, 이것은 결정구조내에 많은 다른 이온들과 결합할 수 있는 특성을 갖고 있다. Cussler 등¹²⁾은 법랑질무기물은 다공성의 solid한 구조로써, interprismatic substance나 법랑소주 경계부위의 법랑질의 무기물은 hydroxyapatite와 비슷하지만 결정구조에 2-4% carbonate가 금속이나 anion과 혼합된 구조인 carbonated apatite로 구성되어 있고 이러한 무기물은 단백질, 지질, 물로 둘러 쌓여 있으며 법랑질의 탈회시 확산 통로로 이용된다고 하였다.

초기 법랑질 우식에서 비교적 광물질 소실이 적은 건전표층과 광물질 소실이 주로 일어나는 표층하 탈회의 소견을 보이는 병소의 생성기전에 대하여 Brudevold⁹⁾는 표층법랑질은 불소, 아연 등의 원소가 풍부하고 수분이나 탄산염이 적게 함유되어 있어 이 부위가 내부 법랑질보다 우식에 저항성을 갖는다고 하였고, Christoffer-

Table 5. The numbers and types of the lesion in experimental solution

Acid Type	농도	발효시간	Lesion type				시편총수 (개)
			C	SSL	E	NL	
L A	10 mM	1일		2		7	9*
		2일		5		4	9*
		3일		7		2	9*
	25 mM	1일		6		4	10
		2일		8		2	10
		3일		8		2	10
	50 mM	1일		9			9*
		2일		9			9*
		3일		9			9*
	100 mM	1일		8		1	9*
		2일		9			9*
		3일		9			9*
A A	10 mM	1일		8	1		9*
		2일		8	1		9*
		3일		8	1		9*
	25 mM	1일		9	1		10
		2일		9	1		10
		3일		9	1		10
	50 mM	1일		9	1		10
		2일		9	1		10
		3일		9	1		10
	100 mM	1일		8	1	1	10
		2일		9	1		10
		3일	1	9			10
P A	10 mM	1일		10			10
		2일		10			10
		3일		10			10
	25 mM	1일		8	2		10
		2일		8	2		10
		3일		8	2		10
	50 mM	1일	1	8			9*
		2일	1	8			9*
		3일	1	8			9*
	100 mM	1일		10			10
		2일	1	9			10
		3일	3	7			10
S A	10 mM	1일		8		1	9*
		2일		8		1	9*
		3일		8		1	9*
	25 mM	1일		9	1		9*
		2일		9	1		9*
		3일	1	9			9*
	50 mM	1일		10			10
		2일	1	9			10
		3일	1	9			10
	100 mM	1일	10				10
		2일	10				10
		3일	10				10

* 1개 시편은 experimental error로 제외

C : cavity
 SSL : subsurface lesion
 E : erosion
 NL : non lesion
 L A : lactic acid
 A A : acetic acid
 P A : propionic acid
 S A : succinic acid

Table 6. The effect of acid type and concentration on lesion depth(μm)

Acid Type 농도 탈회시간	Lactic acid				Acetic acid				Propionic acid				Succinic acid			
	10 mM	25 mM	50 mM	100 mM	10 mM	25 mM	50 mM	100 mM	10 mM	25 mM	50 mM	100 mM	10 mM	25 mM	50 mM	100 mM
1일	2	4	17	22	11	13	20	25	13	16	23	27	16	21	31	#
2일	6	8	22	40	19	22	34	43	21	26	39	45	25	31	48	#
3일	12	14	30	63	28	33	52	67	29	38	56	71	35	44	68	#

: cavity

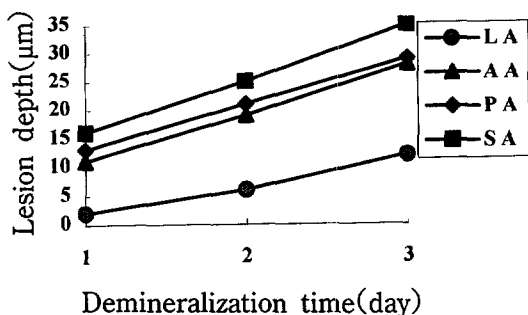


Fig. 1. The comparative lesion depth of organic acids in 10 mM acid concentration.

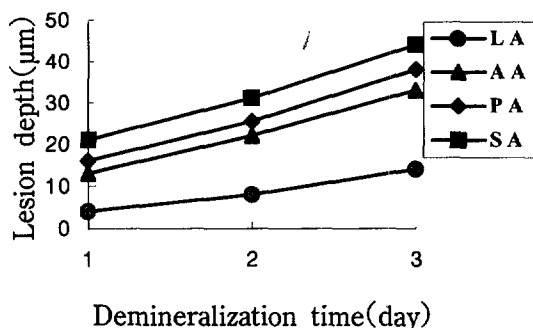


Fig. 2. The comparative lesion depth of organic acids in 25 mM acid concentration.

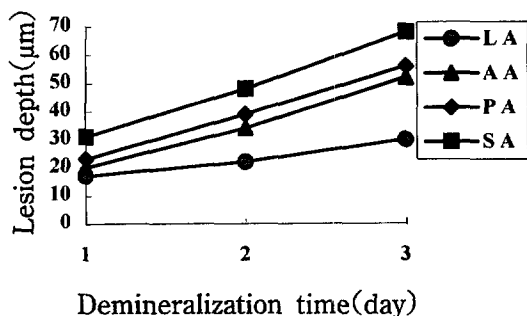


Fig. 3. The comparative lesion depth of organic acids in 50 mM acid concentration.

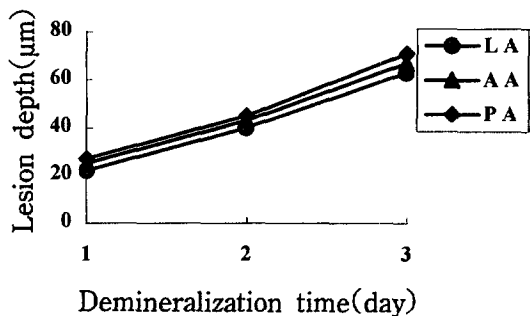


Fig. 4. The comparative lesion depth of organic acids in 100 mM acid concentration.

son 과 Arends¹³⁾는 구강내에서 기인한 억제인자가 우식 진행동안 법랑질로 확산되고 치태 대사과정에서 생긴 이러한 유기산들이 protective surface layer를 통하여 확산되어 표층하 법랑질만 용해시킨다고 하였으며, Moreno 등⁵⁷⁾은 칼슘, 인 등의 동역학적인 면에 기초한 실험을 통해 법랑질 표면의 구조는 변하지 않는 안정된 구조가 아니라 하부에서부터 유리되는 칼슘, 인 등이 침착되면서 유지된다고 하였고, Aoba 등²⁾은 compressed hydroxyapatite pellets를 이용하여 표층하 병소와 유사한 병소를 얻음으로써 억제인자와 표층 법랑질의 화학적 특성이 표층하 병소의 형성에 필수적이지 않음을 밝혔으며, Sperber와 Buonocore⁷¹⁾는 비록 자연적으로 형성되는 억제인자와 법랑질표층의 특이한 특성이 표층하 병소의 형성에 중요하지만 표층 법랑질을 제거한 부위에서도 표층하 병소가 생긴 것으로 보아 다른 설명이 필요하다고 하였다.

이러한 초기 법랑질 우식을 인공적으로 유발시키는 화학적 방법으로는 diphosphonate, methylcellulose 등의 표면층 보호제를 포함한 acid-gel system⁶⁸⁾과 methylhydroxydiphosphonate, pyrophosphate 등의 inhibitor를 사용한 system²¹⁾ 및 유기산과 칼슘, 인을 포함하는 acid-buffer system⁵⁷⁾이 있으며, 이중 acid-gel system은 gel의 점도를 변형시킴으로써 병소 형성율을 느리게 조절하여 자연 우식과 유사한 형태의 초기 우식 소견인 암층 (dark zone)이나 투명층 (translucent zone)의 형성을 유도할 수 있다는 장점이 있는 반면 병소 형성기간이 너무 길고 실험 결과에 영향을 주는 분석이 되기 어려운 화학적 제제가 gel에 포함되어 있다는 단점이 있다²²⁾. 한편 본 실험에 사용한 acid-buffer system은 동역학적 기전에 입각한 인공우식의 형성법으로 다른 방법에 비하여 확실히 빠른 우식 진행을 보이는 것으로 국내에서도 이⁸²⁾, 백⁸³⁾, 박⁸⁴⁾의 실험을 통하여 밝혀졌고, 이 방법의 경우 너무 빠른 병소 진행률로 인해 Silverstone이 gel을 이용하여 수 개월에 걸쳐 서서히 병소를 진행시켜 관찰하였던 암층 (dark zone)이나 투명층 (translucent zone)의 형성을

유도할 수 없었지만 aqueous organic acid system의 화학적 특성을 잘 규명할 수 있고 우식 병소의 재광화나 우식억제 물질의 연구, 결정 구조 성장 및 치과용 수복물의 우식저항성에 관한 연구들을 단기간에 진행할 수 있어 병소 형성에 관계되는 여러 인자를 정확히 분리 평가할 수 있다는 장점이 있다.

본 연구결과 초기 법랑질 우식병소를 편광 현미경으로 관찰시 표층하 탈회기 일어난 본체는 탈회과정에 의해 형성된 미세공간에 굴절률이 다른 매개(물)가 침윤되어 양성복굴절 (positive birefringence)을 나타내었으며, 정상법랑질에 비하여 Retzius 선조도 탈회증가로 인해 뚜렷하게 관찰되었고, 법랑질 표면에 평행하게 일정한 깊이를 유지하는 연속적인 혹은 불연속적인 병소가 관찰되었다. 불연속적인 병소에서는 우식이 Hunter-Schreger band를 따라 점점이 병소가 형성된 것같은 양상으로 관찰되었으며, 건전표층과 정상법랑질에서는 음성복굴절 (negative birefringence)을 볼 수가 있었다.

관찰된 건전표층은 유기산의 농도나 탈회시간의 변화에 관계없이 거의 일정한 두께로 관찰되었으며 일부에서는 건전표층이 없거나 희미하게 erosion양상으로 관찰되기도 하였다. 또한 lactic acid의 경우는 농도가 낮은 군에서 무변화를 보인 시편이 일부 관찰되었는데, 이러한 농도로는 우식병소를 유발하기 어려운 것인지 혹은 우식병소 형성률이 매우 느려서 병소형성을 위해서는 탈회시간을 더 길게 해주어야 하는지는 앞으로 지속적인 연구가 필요하리라 생각되며 이러한 결과로부터 우식형성을 위해서는 pH만으로는 충분하지 않고 lactic acid의 농도와 함께 조건이 충족되어야 치아우식이 잘 생길 것으로 생각된다.

이처럼 인공적으로 형성된 우식 표면하병소의 편광현미경 관찰시 탈회된 가장자리는 전반적으로 매끄럽고 법랑질 표면과 평행한데 반하여 오랜 기간에 걸쳐 형성된 자연우식의 경우에는 가장자리가 불규칙하고 전형적인 톱니 모양의 외형을 보인다고 보고되고 있다⁵¹⁾. 따라서 법랑질 탈회를 매우 느린 속도로 진행되도록 완

충액의 점도나 포화도를 조절하면 인공우식 병소에서 관찰되는 한계를 극복할 수 있을 것이고 탈회양상은 자연우식과 비슷한 소견을 보일 것으로 생각된다.

Von Vartheld⁷⁾, Silverstone 등⁶⁶⁾이 우식과 정에서 우식 표면하병소 상방을 덮고있는 건전표층의 존재를 보고한 이래 Brudevold¹⁰⁾는 건전표층이 생기는 이유로 치아표면의 특수한 성질, 즉 표면부위는 안쪽부위 보다는 불소의 농도가 높고 무기물과 아연의 함량이 많으며 탄소가 적어서 내부 법랑질보다 저항성을 갖기 때문이라고 하였고 Featherstone²¹⁾, Theuns 등⁷⁵⁾은 건전표층은 산의 농도나 pH와 관계없이 일정하게 유지된다고 하였다.

Groeneveld 등²⁸⁾도 pH와 탈회시간에 관계없이 거의 일정한 두께의 표면층이 유지됨을 보고하였으며 이러한 건전표층은 재광화시 중요한 역할을 한다고 하였다.

한편 본 실험에서 측정된 건전표층의 두께는 8 μ m 이하로써 편광현미경의 해상도로는 그 측정에 많은 어려움이 있었는데 따라서 microradiograph^{21, 22, 76)}을 이용하면 매우 효과적일 것으로 생각된다. Moreno 등⁴⁵⁾은 동역학적 기전에 입각한 그의 실험에서 건전표층이 유지되기 위해서는 두 가지 조건이 충족되어야 한다고 주장하였는데 첫째, 법랑질 내부로 확산되는 이온들의 확산율이 가상의 reprecipitation process를 초과하지 않아야 하며 둘째, 법랑질 표면에서도 reprecipitation이 일어날 수 있는 조건이 충족되기 위해서 법랑질 표면에서 DCPD (CaHPO₄ · 2H₂O)의 형성이 반드시 일어나야 한다고 하였다. 즉, 법랑질 우식의 초기 단계로 적절한 산성의 조건하에서 법랑질 표면에 약간의 용해가 일어나고 DCPD가 형성되면 이때 법랑질 표면과 접촉하고 있는 완충용액과 법랑질 및 DCPD사이에 quasi-equilibrium을 이루기 때문에 표층하 병소가 형성되며 이렇게 준평형 상태를 이룰 수 있는 조건이 되면 항상 표층하 병소를 형성할 수 있다고 주장하였다. 그러므로 본 실험에서 표층하 병소를 형성하지 못한 균에서는 다른 조건은 같지만 법랑질의 용해도에 있어 차이가 나기 때문이 아닌가 사

료된다. 그러나 Van Dijk 등⁷⁸⁾은 pH 5.0 이상에서도 우식표면하 병소가 형성되는 것을 보고하여 DCPD 형성이 우식표면하 병소의 형성에 필수적인 요소는 아니라고 주장하였다.

일반적으로 법랑질 탈회를 조절하는 인자로는 탈회용액의 포화도, pH, 탈회시간, 유기산의 비이온화된 형태의 농도, 산해리 상수, 법랑질의 조직학적 구조의 특성 등을 열거할 수 있다. 법랑질 탈회와 plaque pH와의 상관성에 대하여 Moore 등⁵⁹⁾은 치태의 우식원성을 측정하는 기준으로 pH를 사용하였고, Theuns 등⁷⁹⁾은 법랑질 탈회율은 pH만으로는 충분하지 않고 산의 농도와 pH가 함께 조건이 충족되어야 치아우식이 잘 생긴다고 하였다. Moreno와 Margolis 등⁴⁶⁾은 lactic acid의 포화도와 농도를 일정하게 하고 pH를 증가시킨 경우 우식 표면하층의 진행이 늦어진다고 하였으나, Featherstone과 Rodgers 등²⁴⁾은 pKa가 큰 산들의 경우 오히려 pH 5.5 이상에서 병소가 더 빨리 진행되었다고 보고하였다.

그러나 본 실험은 우식형성에 관계되는 각 유기산의 영향을 동일한 pH에서 진행하여 pH에 의한 영향을 배제하였는 바 앞으로 lactic acid 외의 pKa가 높은 유기산들의 pH 변화에 따른 우식병소 형성률을 비교 관찰하는 것도 매우 흥미로운 연구가 되리라 생각된다.

한편 Margolis와 Moreno 등^{46, 47)}은 동역학적인 기전에 입각한 그의 우식형성 가설에서 완충액의 포화도를 thermodynamic solubility constant에 대한 칼슘, 인 등의 ionic activity의 비로 정의하였으며, 법랑질 탈회율은 이러한 탈회용액의 다양한 포화도 (degree of saturation)에 의해 조절되고 pH만으로는 법랑질 탈회의 driving force가 되지 않기 때문에 in vivo나 in vitro상에서 행해진 인공우식 실험에서 pH 변화에 따른 결과를 해석하는 데는 상당한 주의가 필요하다고 하였다. 즉 법랑질 탈회율은 완충액속의 모든 이온의 활동도에 의존하며 단순히 수소이온에 의해서만 결정되지 않는다고 하였고 따라서 이러한 이온들의 활동도에 영향을 주는 치태내의 모든 요소들을 고려하여야 한다고 주장하였다.

완충액내의 산의 농도와 pH를 일정하게 유지하면서 포화도만을 변화시켜본 이 등⁸²⁾의 실험에서 포화도가 변화함에 따라 cavity, subsurface lesion, erosion, non lesion 등의 모든 현상이 관찰되었고 우식 표면하층이 가장 잘 형성되는 포화도는 0.153 ± 0.003 으로 나타났다. 따라서 본 실험은 이러한 범위의 포화도를 유지하기 위해 필요한 칼슘, 인 및 유기산의 농도를 계산하여 완충용액을 제조하고 실험을 진행하였다. 그러나 본 실험결과에서 나타난 바와 같이 표층하 병소가 잘 형성할 수 있는 포화도가 되도록 조절하였음에도 불구하고 erosion 혹은 무변화로 관찰되는 시편이 있었는데, 이는 각 시편들의 법랑질의 용해도가 다르기 때문으로 추측되며 이는 같은 개체에서도 부위에 따라 형성 시기가 다르기 때문에 용해도에 차이가 난다고 볼 수 있겠다.

초기 인공우식 형성에 영향을 미치는 인자중 탈회시간과 병소깊이와의 상관성에 대하여 Featherstone과 Duncan 등^{21, 22)}은 MHDP system을 이용한 그의 실험에서, 초기에 법랑질의 표면은 acquired pellicle같은 표면층 보호제에 의해 보호되다가 우식 진행과정에서 유기산의 비이온화 형태가 법랑질의 interprismatic and intercrystalline pore를 통해 점차 확산되어 내부의 법랑질을 용해시키고, 이렇게 용해된 칼슘 및 인이 음이온과 결합하여 다시 비이온화된 형태로 법랑질 밖으로 확산되어 결국 건전표층을 갖는 우식표면하 병소가 형성되며 병소 깊이는 시간의 제곱근에 비례한다고 하였다. Christofferson과 Arends 등¹³⁾은 6% HEC system을 이용한 연구에서 법랑질 표면에 있는 세공을 통하여 이온의 확산이 일어나고 이어서 불소나 인 등의 구강내의 억제인자가 법랑질 표면에 침투하여 표면 법랑질의 용해를 방해할 수 있다는 모델을 기초로 하여 병소깊이가 시간의 삼제곱근에 비례한다고 하였다. 한편 본 실험은 동역학적인 면에 기초로 한 Moreno의 인공 우식법을 사용하여 완충용액의 포화도 및 pH를 고정시키고 시간의 변화에 따른 탈회효과를 관찰하였는데 유기산의 농도가 낮은 10 mM, 25 mM 군은 모든 유기산에서 탈회시간이

길어져도 병소깊이가 뚜렷하게 증가되지 않았지만 50 mM 및 100 mM 군에서는 병소가 뚜렷하게 진행되었고, 전반적으로는 완충용액에 오래 노출할수록 형성된 우식병소 깊이는 증가되어 Gray²⁷⁾, Groeneveld²⁸⁾, Margolis 등⁵⁰⁾의 연구결과와 대체적으로 일치한 소견을 보였다 (Table 6).

한편 Featherstone과 Rodgers 등²⁴⁾은 우식병소의 진행률은 비이온화된 형태의 산의 농도와 각 산마다 고유한 해리속도를 나타내는 acid strength와 상관성이 있다고 하였는데, 일단 법랑질 내부로 침투된 유기산이 H⁺ 및 음이온(L⁻ or A⁻) 형태로 해리되는 속도는 pKa가 낮은 산이 더 빠르게 일어나고 해리된 이들 성분들이 법랑질의 결정구조를 공격하여 hydroxyapatite가 분해되면서 우식 표면하병소가 형성된다고 주장하였다.

따라서 본 실험에서도 유기산의 비이온화된 형태의 농도와 법랑질탈회와의 연관성을 알아보기 위하여 농도가 낮은 10 mM, 25 mM 군에서 pH 4.3 일때, Handersson-Hasselbalch 공식을 이용하여 각 유기산의 비이온화된 형태의 농도를 계산하여 보면 acetic acid (pKa=4.76), propionic acid (pKa=4.87), succinic acid (pKa=4.21/5.76)가 강산인 lactic acid (pKa=3.86)보다 약 2-3 배 정도 많이 형성되었고 이에 비례하여 병소깊이가 증가한 것으로 나타났는데, 이는 법랑질 내부로 확산되는 이러한 비이온화된 형태의 산의 농도가 증가함으로써 병소의 진행이 촉진되었기 때문으로 생각된다. 그러나 Theuns 등⁷⁵⁾은 비이온화된 형태의 산의 농도가 우식의 진행에 중요한 역할을 하지만 이를 일정하게 유지시키고 완충액의 pH만을 독립적으로 변화시킨 경우 pH가 높을수록 우식의 진행속도가 감소한다고 보고 하였다.

그러나 농도가 높은 50 mM, 100 mM 군의 경우 lactic acid는 비이온화된 형태의 농도가 낮음에도 불구하고 다른 유기산과 비슷한 병소깊이를 보였는데, 이는 산해리 상수가 큰 유산은 다른 유기산보다 수소이온과 acid anion으로 해리되는 속도가 빨라 내부 법랑질

에서 이들의 농도가 높아지면서 각 이온들의 세기와 활성도가 높아져 이들이 법랑질의 탈회율에 영향을 주었기 때문이라고 생각되며 이러한 결과는 Kapur³⁷⁾, Featherstone²⁴⁾의 보고와 일치하였다.

Featherstone²²⁾은 또한 우식병소가 형성되기 위하여서는 plaque fluid나 타액으로부터 기원한 유기질에 의하여 치아 표면에 얇은 막이 형성하고 이러한 막은 생체내에 존재하는 인단백질성의 막과 같이 비극성의 물질만을 선택적으로 통과시키며 이렇게 법랑질의 표면을 통과한 비이온화된 형태의 산이 법랑질의 표층하부에서 극성을 띠는 이온으로 분해되어 탈회를 야기한다고 하였고, 이 과정에서 법랑질 표면에 유기막의 존재가 우식병소의 형성에 필수적이라고 주장하였다.

그러나 본 실험은 gel이나 탈회를 방해하는 것으로 알려진 어떠한 물질도 포함하지 않은 유기산과 다양한 농도의 칼슘과 인만이 포함된 acid-buffer system을 사용하였고, 또한 실험 전에 법랑질의 표면처리에 철저한 과정을 거쳤으므로 표면에 유기막과 같은 구조는 없다고 할 수 있다. 따라서 법랑질 표면에 어떠한 유기막의 존재가 우식병소의 형성에 필수적이라고 한 Featherstone의 주장은 재고해 보아야 할 것으로 생각된다.

그러나 구강 내에서 일어나는 법랑질 탈회는 salivary protein⁷⁷⁾이나 불소 등³⁸⁾에 의해 영향을 받기 때문에 이러한 요소들의 영향을 무시할 수는 없다고 생각한다.

법랑질 탈회와 법랑질의 조직학적 구조와의 연관관계에 대하여 Orams 등⁵⁹⁾은 법랑소주 경계부는 해부학적으로 가장 풍부한 enamel pore이고 이온들의 확산에 중요한 역할을 한다고 보고하였고, Fosdick⁵⁵⁾은 법랑소주경계부에 가장 porosity가 많은 것으로 보고하였으며, Arends 등⁶⁾은 interprismatic substance 부위의 법랑질 crystallites가 비교적 낮은 밀도로 구성되어 있어 산은 이러한 porosity가 많은 곳을 따라 침투하게 되며 완충용액의 pH 및 농도, ionic strength, 포화도, 용해율 상수, 법랑질 기질의 porosity에 따라 in vitro에서는 법랑질

용해의 속도와 형태에 직접 혹은 간접으로 영향을 주게 된다고 하였다.

Rubinson²⁹⁾은 intercrystalline pores는 단백질과 물과 지질로 채워져 있으며 유기산의 비이온화된 형태가 이곳을 거쳐 농도차에 의해 법랑질 안으로 확산된다고 하였다.

Scott⁶³⁾는 Hunter-Schreger band가 침입 속도와 방향에 영향을 미친다고 하였고, Holmen³⁴⁾은 우식진행 과정에서 intercrystalline space, prism core, prism periphery에 변화가 일어난다고 하였으며 광물질 함유량의 차이, crystal orientation, 유기기질의 국소적인 농도에 따라 우식병소 형성률이 영향을 받는다고 하였다.

Hollsworth^{29), 30)}는 interprismatic substance과 법랑소주 경계 부위는 magnesium이나 carbonate가 풍부한 mineral phase가 존재하여 cariogenic agents에 쉽게 공격당하는 취약부위인 반면, 불소가 포함된 lattice부위는 반대로 우식에 보다 저항성을 갖는다고 하였다. Darling¹⁵⁾은 법랑질 내에서의 탈회는 법랑소주와 Retzius 선조와 연관된다고 하였고 carious agents가 제일 먼저 Retzius 선조를 침범한다고 하였다. 또한 그는 저항성이 있는 표면층을 지나서 cariogenic agents의 일반적인 침입경로는 Retzius line을 따라 일어나며 대개 몇개의 Retzius line에서 동시에 침입이 일어나고 후에 인접한 Retzius line이 포함된다고 하였으며, 다만 표면 법랑질이 손상받은 경우에는 법랑소주 방향에 평행한 경로를 따라서 진행된다고 하였다. 표면층을 통한 침입이 확립된 후 법랑질 내에서의 진행경로를 살펴보면, Retzius line이 발달되지 않은 경우에는 초기에 interprismatic substance를 따라가다가 cross-striation을 거쳐 법랑소주 방향으로 진행되지만 prism cortex는 영향받지 않는다고 하였으며, Retzius line이 잘 발달된 경우에는 주로 Retzius line을 거쳐 법랑소주 방향으로 진행하며 이 경우에는 Retzius line쪽으로는 진행이 쉬우나 내부법랑질 쪽으로는 그 진행이 어렵다고 보고하였다. 그는 또 법랑질 유기기질의 상이한 용해도의 차이에 의해 생기는 현상으로 저항성이 있고 불용성

구조로 표면층과 prism cortex를 들었고, 쉽게 탈회되는 구조로는 interprismatic substance와 prism core 및 Retzius line을 보고하였다.

이상에서와 같이 우식병소의 형성과 관련된 인자들인 plaque fluid의 구성성분과 pH, 포화도, 유기산의 비이온화된 형태의 농도, 산해리상수, 법랑질의 조직학적 구조의 특성 등에 대해서는 앞으로도 연구가 계속되어야 할 분야라고 생각된다.

본 연구결과 특히 흥미로운 관찰 소견으로 succinic acid의 100 mM 균의 경우 모든 시편에서 와동 저부에 새로운 우식 표면하층이 형성되는 소견이 관찰되었는데, 이러한 결과로부터 사람마다 구강내 세균의 환경이 다양하고 치태내 세균의 대사과정에서 생산되는 유기산의 양 및 종류도 다양할 것으로 생각되지만 succinic acid가 상대적으로 많이 생산되는 경우 와동이 형성될 가능성이 높을 것으로 생각되는바, succinic acid를 많이 생산하는 세균의 종류를 규명하고 이의 성장을 효과적으로 억제하는 약제의 개발이나 치치가 예방치과적인 관점에서 우식 억제에 매우 효과적일 것으로 생각되며 앞으로 이 분야로의 지속적인 연구가 필요하리라 생각된다.

또한 Handersson-Hasselbalch 공식을 적용해 볼때 pH 5.5 이상에서 acetic acid, succinic acid, propionic acid 같은 약산들은 거의 대부분이 산이 비이온화된 형태로 존재하기 때문에 이들 유기산들이 우식과정에 중요한 역할을 할 것으로 추정되지만, 본 실험에서 처럼 각 유기산들이 단독으로 우식과정에 참여하는 것이 아니고 구강내에서 plaque fluid를 구성하는 요소의 일부분으로 서로 혼합되어 존재할 것으로 생각되므로 이들 유기산들이 혼합된 조건에서 우식병소 형성률을 알아보는 실험도 매우 흥미로운 것으로 생각된다.

또한 본 실험에 사용된 시편제작법은 건전한 법랑질 부위에 입방형의 window를 형성하고 인공우식을 유발시킨후 경조직 절단기를 사용하여 일정한 두께의 절편을 얻고 미세입자의 사포를 이용하여 100 μ m 두께의 관찰 시편을 얻는 기존의 실험방법의 문제점인, 시편의 win-

dow 부위를 절단할때나 절단후 사포로 연마시 관찰하려는 시편의 우식 병소부위가 깨지거나 파손되는 빈도를 많이 줄일수 있는 잇점이 있어 앞으로 이러한 인공우식 실험에서도 그 활용이 기대된다.

이처럼 동일한 실험 조건하에서 형성된 인공 치아우식이라 하더라도 치아에 따라 혹은 같은 치아에서도 부위에 따라 약간씩 차이가 나타나기도 하는데 이러한 현상은 치령, 구강내 환경의 차이, 식이습관, 불소도포 여부, 법랑질 조성의 차이에 있다고 추측된다.

따라서 법랑질이 균일한 조성의 물질이 아니고 여러가지 물질이 혼합된 복합적인 구조로 되어 있다는 것을 고려하면 가능한 동일한 피검자의 치아를 이용하거나 Groeneveld²⁸⁾가 제안한 single section technique을 사용하여 보다 객관적으로 비교 평가하는 작업이 필요하리라 생각된다.

이상의 실험결과를 토대로 치아우식과 관련된 유기산의 역할에 대하여 생각해 볼 수 있는 가설로는 치태에서의 미생물에 의해서 형성된 plaque fluid내에는 각기 다른 pKa를 갖는 여러 유기산들이 존재하며 이들에 의하여 plaque fluid의 final pH가 결정되고 역으로 이렇게 결정된 plaque pH의 영향을 받아 이들 유기산들은 각각의 pKa에 따라 이온화되거나 혹은 비이온화된 형태로 존재하게 된다.

한편 산에 의하여 영향을 받은 법랑질의 표면은 부분적인 탈회의 과정을 겪게 되는데 이러한 탈회로 생긴 결손부를 통하여 비이온화된 형태의 유기산의 침투가 이루어지며 이러한 비이온화된 형태의 농도는 plaque fluid의 pH와 산의 고유한 pKa에 의하여 결정된다.

한편 우식 병소형성률은 이러한 유기산의 비이온화된 형태의 농도외에 각 유기산마다 고유한 acid strength (acid dissociation constant)도 법랑질 탈회에 영향을 주어 결국 건전 표층을 갖는 우식 표면하층을 형성하는 것으로 생각된다.

또한 약산은 구강내에서 pH가 높아지는 환경으로 변화되는 경우 비이온화된 형태의 농도가 상대적으로 증가하여 이들에 의하여 우

식병소의 형성이 크게 영향을 받을 것으로 생각되지만 앞으로 이 분야에 대한 지속적인 연구가 필요하리라 보며, 치태내 세균의 대사물질에 관한 미세한 정량분석을 통하여 유기산과 연관된 각각의 균주의 역할, 특히 succinic acid를 주로 생성하는 미생물에 대한 연구가 예방치과적인 관점에서 필요하리라 생각되며 또한 초기 법랑질 우식병소를 효과적으로 재광화시키거나 재결정화를 시킬수 있는 조건들 즉 용액의 조성, pH, 온도 및 시간 등에 관한 연구를 기초로 확실한 우식 형성기전과 영향인자에 대한 다각적인 연구결과를 통하여 우식발생을 조기에 차단할 수 있는 효과적인 우식 예방법의 개발이 필요하리라 사료된다.

V. 결 론

저자는 탈회나 균열이 없는 건전치아를 대상으로 100 μ m 두께의 치아 연마표본을 제작한 후 pH와 포화도를 일정하게 하고 lactic acid, acetic acid, propionic acid, succinic acid의 농도를 10mM, 25mM, 50mM, 100mM로 변화시킨 산완충용액에 1일, 2일, 3일간 탈회시간을 달리하여 25 $^{\circ}$ C 항온조에 담가 두었다가 법랑질 탈회를 유도시킨후 편광현미경으로 증류수에 침윤시켜 연구 관찰하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 편광현미경을 이용하여 물을 침윤시켜 관찰한 결과 건전표층과 정상법랑질은 음성복굴절 (negative birefringence)을, 병소본체는 양성복굴절 (positive birefringence)을 나타내었다.
2. 각 유기산의 농도가 높아질수록 법랑질의 탈회속도가 빨랐다.
3. 표층하 탈회의 병소깊이는 lactic acid, acetic acid, propionic acid, succinic acid 순으로 증가하였다.
4. pH와 포화도를 일정하게 하였을때 유기산의 농도가 법랑질의 탈회속도에 영향을 주었다. 이상의 결과로 초기 법랑질 우식병소 형성에 있어 pH나 포화도 외에 유기산의 농도도 독립

적으로 법랑질 탈회에 관여하는 것으로 생각되며 그 외에 법랑질 탈회에 관여하는 인자들에 대한 다각적인 연구를 통하여 우식 발생을 조기에 차단할 수 있는 효과적인 우식 예방법의 개발이 필요하리라 사료된다.

VI. 참고문헌

1. Almqvist, H., Larserlof, F. : Automatic pH cycling caries model applied on root hard tissue. *Caries Res.*, 24 : 1-5, 1990.
2. Aoba, T., Morisaky, Y., Okasaki, M., Takayashi, J. : The intact surface layer in natural enamel caries and acid-dissolved hydroxyapatite pellets. *J. Oral Path.*, 10 : 32-39, 1981.
3. Aoba, T., Morisaky, Y., Okasaki, M., Takayashi, J. : X-ray diffraction study on demineralization using synthetic hydroxy-apatite pellets. *Caries Res.*, 12 : 223-230, 1978.
4. Applebaum, E. : Incipient dental caries. *J. Dent. Res.*, 12 : 223-230, 1978.
5. Arends, J., Christoffersen, J. : The nature of early caries lesions in enamel. *J. Dent. Res.*, 65 : 2-11, 1986.
6. Arends, J., Schuthof, J. : Lesion depth and microhardness indentations on artificial white spot lesions. *Caries Res.*, 14 : 190-195, 1980.
7. Von Bartheld, F. : Membrane phenomena in caries dissolution of the enamel. *Arch Oral Biol.*, 6 : 284-303, 1961.
8. Borggreven, J.M.P., Van Dijk, J.W.E. : Dissolution and precipitation in human tooth enamel under weak acid conditions. *Arch Oral Biol.*, 31 : 139-144, 1986.
9. Brown, W.E., Patel, P.R., Chow, L.C. : Formation of $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ from enamel mineral and its relationship to caries formation. *J. Dent. Res.*, 54 : 475-481, 1975.
10. Brudevold, F., Steadmann, L.T. : Inorganic and organic components of tooth stru-

- cture. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 85 : 110-132, 1960..
11. Brudevold, F., Steadmann, L.T. : A micro-radiographic and polarizing microscopic study of sound enamel. *J. Dent. Res.*, 38 : 1181-1186, 1955.
 12. Cussler, E.L., Featherstone, J.D.B. : Demineralization of porous solids. *Science.*, 213 : 1008-1019, 1981.
 13. Christoffersen, J., Arends, J. : Progress of artificial lesion progression in enamel. *J. Dent. Res.*, 63 : 13-18, 1984.
 14. Coolidge, T.B., Besic, F.C., Jacobs, M.H. : A microscopic comparison of clinically and artificially produced changes in enamel. *Oral Surg.*, 8 : 1204-1210, 1955.
 15. Darling, A.T. : Studies of the early lesion of enamel caries with transmitted light, polarized light, and microradiography ; its nature, mode of spread, points of entry and its relationship to enamel structure. *Brit. Dent. J.*, 105 : 119-135, 1958.
 16. Dibdin, G.H. : Surface areas of dental enamel ; comparison of experimental values with calculated for its structural components. *J. Dent. Res.*, 51 : 1254-1257, 1972.
 17. Dibdin, G.H. : Plaque fluid and diffusion ; study of cariogenic challenge by computer modeling. *J. Dent. Res.*, 69 : 1324-1331, 1990.
 18. Edgar, W.M., Highman, S.M. : Plaque fluid as a bacterial milieu. *J. Dent. Res.*, 69 : 1332-1336, 1990.
 19. Englander, H.R., Carter, W.M.J. : The formation of lactic acid in dental plaque(III). *J. Dent. Res.*, 35 : 792-799, 1956.
 20. Enright, J.J., Friesell, H.E., Tresher, M.O. : Studies of the cause and nature of dental caries. *J. Dent. Res.*, 12 : 759-827, 1932.
 21. Featherstone, J.D.B., Duncan, J.F., Cutress, T.W. : Surface layer phenomenon in vitro early caries-like lesions in human tooth enamel. *Arch Oral Biol.*, 23 : 397-404, 1978 a.
 22. Featherstone, J.D.B., Duncan, J.F., Cutress, T.W. : A mechanism for dental caries based on chemical process and diffusion phenomena during in vitro caries simulation on human tooth enamel. *Arch Oral Biol.*, 24 : 101-112, 1979.
 23. Featherstone, J.D.B., Mellberg, J.R. : Relative rates of progress of artificial carious lesions in bovine and human enamel. *Caries Res.*, 15 : 109-114, 1981.
 24. Featherstone, J.D.B., Rodgers, B.E. : Effect of acetic, lactic and other organic acids on the formation of artificial carious lesions. *Caries Res.*, 15 : 377-385, 1981.
 25. Geddes, D.A.M. : The production of L(+) and L(-) lactic acid and volatile acids by human dental plaque and the effect of plaque buffering and acidic strength and pH. *Arch Oral Biol.*, 17 : 537-565, 1972.
 26. Geddes, D.A.M. : Acids produced by human dental plaque metabolism in situ. *Caries Res.*, 9 : 98-109, 1975.
 27. Gray, J.A. : Kinetics of enamel dissolution during formation of incipient carious-lesions. *Arch Oral Biol.*, 11 : 397-421, 1966.
 28. Groneveld, A., Arends, J. : Influence of pH and demineralization time on enamel content, thickness of surface layer and depth of artificial carious lesions. *Caries Res.*, 9 : 36-44, 1975.
 29. Hallsworth, A.S., Rubinson, C. : Mineralized magnesium distribution within the proximal carious lesion of dental enamel. *Caries Res.*, 6 : 156-168, 1972.
 30. Hallsworth, A.S., Weatherell, J.A. : Loss of carbonate during the first stages of enamel. *Caries Res.*, 7 : 345-348, 1973.
 31. Hamilton, W.J., Judd, G., Ansell, G.S. : Ult-

- rastructure of human enamel specimens prepared by ion micromilling. *J. Dent. Res.*, 52 : 703-710, 1973.
32. Hay, D.I., Smith, D.J., Moreno, E.C. : Relationship between concentration of human salivary statherin and inhibition of calcium phosphate precipitation in simulated human parotid saliva. *J. Dent. Res.*, 63 : 857-863, 1984.
 33. Holly, F.J., Gray, J.A. : Mechanisms of incipient carious lesion growth utilizing a physical model based on diffusion concepts. *Arch Oral Biol.*, 13 : 319-334, 1968.
 34. Holmen, L. : A scanning electron microscopic study of progressive stages of enamel caries in vivo. *Caries Res.*, 19 : 355-356, 1985.
 35. Ingram, G.S., Silverstone, L.M. : A chemical and histological study of artificial caries in human dental enamel in vitro. *Caries Res.*, 15 : 393-398, 1981.
 36. Jenkin, G.N., Dowse, C.M. : Fluoride uptake in vivo in enamel defected and its significance. *J. Dent. Res.*, Abstr. #816, 1957.
 37. Kapur, K.K., Fischer, E.F., Manly, R.S. : Influence of type of acid, pH, molarity, saturation in rate of enamel penetration. *J. Dent. Res.*, 41 : 760-770, 1962.
 38. Larsen, M.J. : Chemically induced in vitro lesions in dental enamel. *Scan. J. Dent. Res.*, 32 : 496-509, 1974.
 39. Larsen, M.J. : Demineralization of human enamel. *Scan. J. Dent. Res.*, 82 : 491-495, 1974.
 40. Johnson, N.W. : Transmission electron microscopy of early carious enamel. *Caries Res.*, 1 : 356-359, 1967.
 41. Legreos, R.Z. : Calcium phosphates in oral biology and medicine. Karger., 1991.
 42. Manly, R.S., Emerson W.H., Kapur K.K. : A method for study of penetration of enamel by acid buffers. *J. Dent. Res.*, 40 : 891-902, 1961.
 43. Margolis, H.C. : An assessment of recent advances in the study of the chemistry and biochemistry of dental plaque fluid. *J. Dent. Res.*, 69 : 1337-1342, 1990.
 44. Margolis, H.C., Moreno, E.C. : Composition of pooled resting plaque fluid from caries free and caries susceptible individuals. *J. Dent. Res.*, 67 : 1468-1475, 1988.
 45. Margolis, H.C., Moreno, E.C. : Kinetic and thermodynamic aspect of enamel demineralization. *Caries Res.*, 19 : 22-35, 1985.
 46. Margolis, H.C., Moreno, E.C. : Kinetics of hydroxyapatite dissolution. *J. Dent. Res.*, Abstr. #1546, 1990.
 47. Margolis, H.C., Moreno, E.C. : Physicochemical perspectives on the cariostatic mechanisms of systemic and topical fluorides. *J. Dent. Res.*, 69 : 606-613, 1990.
 48. Margolis, H.C., Moreno, E.C., Murphy, B.J. : Importance of high pKa acids in cariogenic potential of plaque. *J. Dent. Res.*, 64 : 786-792, 1985.
 49. Margolis, H.C., Moreno, E.C., Murphy, B.J. : Effect of low levels of fluoride solution on enamel demineralization. *J. Dent. Res.*, 65 : 23-29, 1986.
 50. Margolis, H.C., Moreno, E.C., Murphy, B.J. : Development of caries like lesions in partially saturated lactate buffers. *Caries Res.*, 19 : 36-45, 1985.
 51. Meckel, A.H., Neal, R.J. : Structure of mature human enamel as observed by electron microscopy. *Arch Oral Biol.*, 10 : 775-783, 1965.
 52. Minah, G.H., Loeshe, W.J. : Sucrose metabolism in resting-cell suspensions of caries associated and non-caries associated dental plaque. *Infect Immun.*, 17 : 43-54, 1977.
 53. Moore, B.W., Carter, W.J., Fosdick, L.S. : The formation of lactic acid in dental

- plaque(I). *J. Dent. Res.*, 35 : 778-785, 1956.
54. Moreno, E.C., Margolis, H.C. : Composition of human plaque fluid. *J. Dent. Res.*, 67 : 1181-1189, 1988.
 55. Moreno, E.C., Zahradnik, R.T. : The pore structure of human dental enamel. *Arch Oral Biol.*, 18 : 1063-1068, 1988.
 56. Moreno, E.C., Zahradnik, R.T. : Demineralization and remineralization of dental enamel. *J. Dent. Res.*, 58 : 896-902, 1979.
 57. Moreno, E.C., Zahradnik, R.T. : Chemistry of enamel subsurface demineralization in vitro. *J. Dent. Res.*, 53 : 226-235, 1974.
 58. Newbrunn, E. : *Cariology*, 3rd edition. pp. 19-26, 1989.
 59. Orams, H.J., Zykort, J.J. : Ultrastructural study of human dental enamel using selected area argon ion beam thinning. *Arch Oral Biol.*, 21 : 663-675, 1976.
 60. Patel, M.V., Fox, J.L., Higuchi, W.I. : Effect of acid type on kinetics and mechanism of dental enamel demineralization. *J. Dent. Res.*, 66 : 1425-1430, 1987.
 61. Plasschaert, A.J., Morch, T., Konig, K.G. : Effect of sodium lactate under conditions of neutral pH on the release of calcium from the enamel surface in vitro. *Caries Res.*, 6 : 334-345, 1972.
 62. Rankin, C.A.N., Moreno, E.C., Vogel, G.L. : Microanalytical determination of pH, calcium, phosphate in plaque fluid. *J. Dent. Res.*, 58 : 896-902, 1985.
 63. Scott, D. B., Nygaard, V. : Structural aspects of dental caries. *J. Dent. Res.*, 53 : 165-175, 1974.
 64. Scott, D.B. : The study of enamel by electron microscopy. *J. Am. Dent. Assoc.*, 44 : 377-375, 1952.
 65. Shellis, R.P. : Relationship between human enamel structure and the formation of caries-like lesions. *Arch Oral Biol.*, 29 : 975-981, 1984.
 66. Silverstone, L.M. : The translucent zone of enamel caries produced in vitro. *J. Dent. Res.*, 44 : 1174-1179, 1965.
 67. Silverstone, L.M. : The primary translucent zone of enamel caries and of artificial caries like lesions. *Brit. Dent. J.*, 120 : 461-471, 1966.
 68. Silverstone, L.M. : Observations on the dark zone in early enamel caries and artificial caries lesions. *Caries Res.*, 1 : 261-274, 1967.
 69. Silverstone, L.M. : The surface zone in caries and in caries like lesions produced in vitro. *Brit. Dent. J.*, 122 : 145-157, 1968.
 70. Silverstone, L.M., Hicks, M.J. : Dynamic factors affecting lesion initiation and progression in human dental enamel. II. surface morphology of sound enamel and caries like lesions of enamel. *Quint. Int.*, 19 : 683-711, 1988.
 71. Sperber, H., Buonocore, C. : Enamel surface in white spot formation. *J. Dent. Res.*, 42 : 724-736, 1963.
 72. Stephan, R.M. : Change in the hydrogen ion concentration on tooth surfaces and carious lesions. *J. Am. Dent. Assoc.*, 27 : 718-723, 1945.
 73. Tatevossian, A. : Facts and artefacts in research on human dental plaque fluid. *J. Dent. Res.*, 69 : 1309-1315, 1990.
 74. Ten Cate, J.M. : In vitro studies on the effects of fluoride on de- and remineralization. *J. Dent. Res.*, 69 : 614-619, 1990.
 75. Theuns, H.M., Van Dijk, J.W.E., Groneveld, A. : Effect of time and degree of saturation of buffer solutions on artificial carious lesion formation in human tooth enamel. *Caries Res.*, 17 : 503-512, 1983.
 76. Van Dijk, J.W.E., Borggreven, J.M.P.M. : Chemical and mathematical simulation of caries. *Caries Res.*, 13 : 169-180, 1979.

77. Zahradnik, R.T., Moreno, E.C., Burke, E. : Effect of salivary pellicle on enamel subsurface demineralization in vitro. *J. Dent. Res.*, 55 : 664-670, 1976.
78. Zahradnik, R.T., Moreno, E.C. : Structural features of human dental enamel as revealed by isothermal water vapor sorption. *Arch Oral Biol.*, 20 : 317-325, 1975.
79. Zahradnik, R.T., Propas, D., Moerno, E.C. : In vitro enamel demineralization by streptococcus mutans in presence of salivary glands. *J. Dent. Res.*, 56 : 1107-1110, 1977.
80. Vratsanos, S.M., Mandel, I.D. : Comparative plaque acidogenesis of caries-resistant and caries-susceptible adults. *J. Dent. Res.*, 61 : 465-468, 1982.
81. White, D.J. : Use of synthesis polymer gels for artificial carious lesion progression. *Caries Res.*, 21 : 228-242, 1987.
82. 이찬영 : 산완충용액을 이용한 인공치아우식 형성. *연세치대논문집.*, 7 : 34-41, 1992.
83. 백은영, 이찬영 : 산완충용액에서 Lactic acid 가 치아우식 형성에 미치는 영향. *연세치대논문집.*, 7 : 42-49, 1992.
84. 박성호, 이찬영 : 유산완충용액을 이용한 인공치아우식의 형성에 미치는 산의 농도와 pH에 관한 연구. *대한치과보존학회지.*, 18 : 277-290, 1993.

사진 부도 설명

- Fig. 5. Polarizing microscopic view of 3 days observation sample of 25 mM in acetic acid, imbibed in water. A typical subsurface lesion with intact surface layer was seen (x25)
- Fig. 6. Polarizing microscopic view of 2 days observation sample of 25mM in propionic acid, imbibed in water. A typical subsurface lesion with intact surface layer and well marked Retzius line was seen (x25).
- Fig. 7. Polarizing microscopic view of 3 days observation sample of 100 mM in propionic acid, imbibed in water. A erosion without surface layer was seen (x25).
- Fig. 8. Polarizing microscopic view of 3 days observation sample of 100 mM in acetic acid, imbibed in water. A erosion with well marked Retzius line was seen (x25).
- Fig. 9. Polarizing microscopic view of 2 days observation sample of 25 mM in propionic acid, imbibed in water. A subsurface lesion was formed along Hunter-schreger band (x25).
- Fig. 10. Polarizing microscopic view of 3 days observation sample of 100 mM in succinic acid, imbibed in water. A cavity was formed and new subsurface lesion was formed under the cavity (x25).
- Fig. 11. Polarizing microscopic view of 3 days observation sample of 100 mM in succinic acid, imbibed in water. A cavity was formed and new subsurface lesion was formed under the cavity (x25).
- Fig. 12. Polarizing microscopic view of days observation sample of 25 mM in lactic acid, imbibed in water. A non-lesion was formed (x25).

금기연논문 사진부도

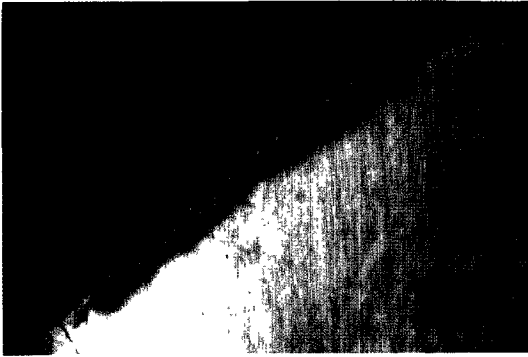


Fig. 5.

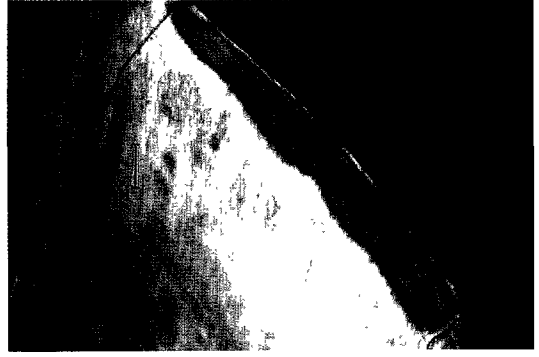


Fig. 6.



Fig. 7.

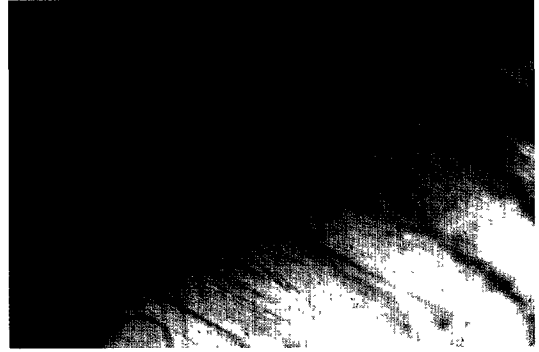


Fig. 8.

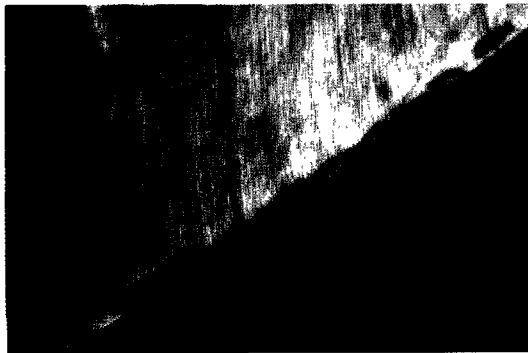


Fig. 9.

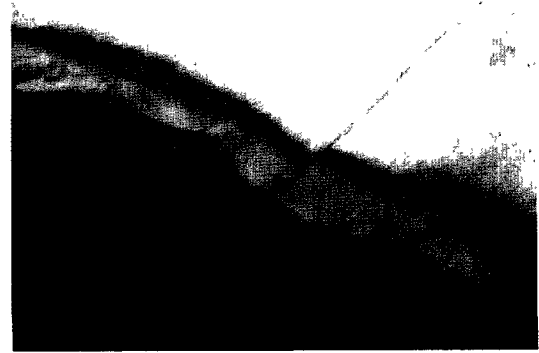


Fig. 10.



Fig. 11.

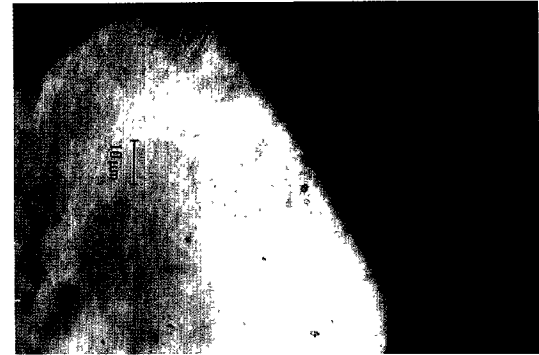


Fig. 12.