

# Effect of Silver Diamine Fluoride and Sodium Fluoride Varnish on Remineralization in Artificially Induced Enamel Caries: An *in vitro* Study

Soyoung Kim<sup>1</sup>, Sangho Lee<sup>1,2</sup>, Nanyoung Lee<sup>1,2</sup>, Myeongkwan Jih<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Department of Pediatric Dentistry, School of Dentistry, Chosun University

<sup>2</sup>Oral Biology Research Institute, Chosun University

## Abstract

The purpose of this study was to compare the remineralization effect of 38% silver diamine fluoride (SDF) and 5% sodium fluoride (NaF) varnish on artificially induced enamel caries.

The present study standardized the physiochemical characteristics of the tooth structure using bovine teeth, realized the wash-off action of agents using a saliva, reproduced an environment similar to mouth through pH-cycling, and comparatively assessed the remineralization effect of 38% SDF and 5% NaF varnish in a non-destructive method using micro-CT. And the remineralized enamel surface structure was analyzed by scanning electron microscopy (SEM) and energy dispersive X-Ray spectroscopy (EDS).

In both SDF and NaF varnish, mineral density ( $\Delta$ Hounsfield unit value) and the volume of enamel restored to normal mineral density through remineralization gradually increased with time. And the SDF showed a much higher level of increase in mineral density at all depths and remineralized volume than NaF varnish.

According to SEM analysis, the surface roughness decreased in the order of artificial saliva, NaF varnish and SDF. In addition, EDS analysis showed that silver ion was precipitated on the enamel surface in SDF group.

In conclusion, SDF had a greater remineralization effect than NaF varnish on demineralized enamel.

**Key words :** Silver diamine fluoride (SDF), NaF varnish, Remineralization, Mineral density, Micro-CT

## I. 서 론

치아우식증 관리의 최근 경향은 초기우식 병소를 조기에 발견하여 재광화 과정을 통해 비침습적으로 처치하는 것이며 이를 위한 치질에서의 탈회와 재광화의 균형 조절은 우식 치료의 핵심으로 인식되고 있다[1]. 이와 같은 재광화 처치를 위해 다양한 제제들이 개발 및 시판되어 왔는데, 이들 제제 중의 하나인 불소는 젤이나 거품 그리고 바니쉬 형 등 다양한 형태로 시판되고 있

다. 이중 바니쉬 형은 다른 제형에 비해 부착성이 좋고 삼킬 위험이 적어 많이 사용되고 있다[2].

여러 가지 불소 제제 중 불화은(silver fluoride)은 오랜 역사를 가지고 있는데, 호주에서는 1984년부터 깊은 우식병소를 갖는 유치에 40% 불화은이 사용되어 왔다[3]. 그러나 제제의 불안정성과 고농도 불소로 인한 불소증 유발 가능성 때문에 사용상의 한계점을 가지고 있었다. 최근에 불화은에 암모니아를 첨가하여 안정성을 증가시킨 silver diamine fluoride (SDF)가 소개되었고

Corresponding author : Sangho Lee

Department of Pediatric Dentistry, School of Dentistry, Chosun University, 309, Pilmundae-ro, Dong-gu, Gwangju, 61452, Republic of Korea  
Tel: +82-62-220-3865 / Fax: +82-62-225-8240 / E-mail: shlee@chosun.ac.kr

Received November 26, 2019 / Revised January 16, 2020 / Accepted December 16, 2019

※This study was supported by the research fund from Chosun University Dental Hospital, 2018.

2014년 미국 FDA의 승인을 받은 이후 38% SDF가 Advantage Arrest™ (Elevate Oral Care, FL, USA)라는 상품명으로 상용화되었다[4]. SDF는 은에 의한 금속성 맛, 치아변색 등의 단점이 있음에도 불구하고 우식의 진행을 억제, 차단시킬 수 있다고 알려졌는데[5,6], 이런 특성으로 인하여 전신질환을 앓고 있는 어린이, 원거리에 거주하여 진료혜택을 받기 어려운 어린이, 행동조절이 어려운 어린이 등 특수한 상황에 처해 있는 어린이의 대체 우식 처치 방법으로 주목을 받고 있다[7,8].

SDF의 우식억제효과는 우식성 biofilm에 대한 강력한 항균 효과, 법랑질에서 칼슘의 용출억제와 재광화, 그리고 상아질에서 matrix metalloproteinases (MMPs)에 작용하여 기질 분해를 억제하는 기전 등에 의한 것으로 알려져 있다[9,10]. 이와 같이 SDF의 항우식 효과는 여러 연구에서 입증되어 오고 있지만 지금까지 가장 많이 사용해 오고 있는 sodium fluoride (NaF) 바니쉬와 그 효과를 비교한 연구는 많지 않으며 학자 간 견해 차이가 있다. SDF가 기존의 NaF 바니쉬의 항우식 효과를 능가해야만 치아변색 등의 단점이 있음에도 불구하고 임상적 적용에 대한 타당성을 가질 수 있을 것으로 생각된다. Shah 등[11]은 SDF, NaF 바니쉬, 그리고 acidulated phosphate fluoride (APF) 등 3가지 불소제제의 *Streptococcus mutans* 억제효과를 비교해 본 결과 SDF가 가장 큰 효과를 보였다고 하였다. 그러나 Delbem 등[12]은 실험실적 연구에서 오히려 NaF 바니쉬가 SDF에 비해 법랑질 탈회억제효과가 더 크다고 하였으며 Mohammadi와 Farahmand[13]는 임상연구에서 SDF와 NaF 바니쉬의 법랑질에서의 탈회억제효과는 비슷하다고 하였다. 상아질에서의 탈회억제효과는 몇몇 연구에서 SDF가 NaF 바니쉬에 비해 크다고 보고되고 있다[14,15]. 그러나 법랑질에서의 재광화 효과를 비교한 연구에서는 학자 간에 이견을 보이고 있다.

이에 본 연구는 법랑질 초기우식병소에 38% silver diamine fluoride (SDF)와 5% NaF 바니쉬를 도포한 후 미세전산화단층촬영기(Micro-CT), 주사전자현미경(Scanning electron microscopy, SEM), 그리고 에너지분산형 분광분석기(energy dispersive X-Ray spectroscopy, EDS)를 이용하여 법랑질 무기질 밀도의 변화 및 표면 미세구조 분석을 통해 두 제제의 재광화 효과를 비교, 평가하고자 하였다.

## II. 연구 대상 및 방법

### 1. 연구 재료

이 연구에 사용된 탈회된 법랑질의 재광화를 위한 제제로 SDF는 38% 농도의 Advantage Arrest™ (Elevate Oral Care, FL, USA)를 사용하였으며 이와 재광화 효과를 비교하기 위한 NaF 바니쉬 제제는 5% NaF의 MI Varnish™ (GC Corp, Japan)를 사용하였다(Table 1).

탈회 시편으로는 소의 전치를 이용하였으며 치아는 뼈에서 분리 즉시 0.1% thymol 용액에 담구어 냉장 보관하였다.

### 2. 연구 방법

#### 1) 시편제작

우식이나 착색, 그리고 구조적 결함이 없는 건전한 소의 절치를 이용하여 시편을 제작하였다. Scaler로 표면의 조직 잔여물을 제거하고 pumice와 증류수로 세마한 후 저속핸드피스로 6.0 mm x 5.0 mm x 5.0 mm 크기로 절단하였다. 시편을 아크릴 주형에 매몰한 후 400, 800, 2400, 4000 grit silicon carbamide paper (RB 204 METPOL-1, R&B Inc., Korea)를 이용하여 표면을 활택, 연마하였다. 법랑질 시편은 미세경도가 250 - 300 Knoop hardness number (KHN) 사이의 것만을 선택하였으며 선택된 시편은 직경 5 mm 원형 크기의 법랑질 표면을 제외한 면에 nail varnish 도포하여 탈회영역을 규격화하였다. 시편은 각 군별로 무작위로 배분하였으며 인공우식병소를 형성하기 전까지 탈이온화된 증류수에 넣어 보관하였다.

#### 2) 인공우식병소 형성

인공우식병소를 유발하기 위한 탈회용액은 다음과 같이 제조하였다. 증류수 250 mL에 0.13 g의 Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>를 넣고 30분간 저어서 용해시킨 다음 2.2 mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 250 mL를 첨가한다. 여기에 50 mM acetic acid 250 mL를 혼합하고 다시 증류수를 부어

**Table 1.** Remineralization agents used in this study

Material	Manufacturer	Composition
Artificial saliva	Prepared at a laboratory	1.5 mM CaCl <sub>2</sub> , 0.9 mM NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> , 0.15M KCl (pH 7.0)
Advantage Arrest™	Elevate Oral Care, FL, USA	38% Silver diamine fluoride
MI Varnish™	GC Corp, Japan	5% Sodium fluoride, 2% CPP-ACP

전체 용액의 부피를 1,000 mL로 맞추어 다음 50% NaOH로 pH를 4.5로 조정하여 최종 완성하였다.

시편을 탈회용액에 침잠시켜 37°C 항온기에 3일간 보관하면서 인공우식병소를 유발시켰다. 탈회용액은 24시간 간격으로 교환하였다.

3) 시편의 분류

초기우식병소를 형성한 시편을 3차 증류수로 세척하고 압축공기를 이용해 건조시킨 후 QLF-D (QLF-D biluminator™, Inspektor Research system BV, Amsterdam, Netherlands)를 이용해 탈회정도를 정상 치질과 비교한 형광색조대비차(ΔF)를 측정하였다. 다음 측정된 ΔF값을 기준으로 초기우식범위(-25 - -15)에 해당하는 시편 150개를 선택하여 재광화 제제의 종류와 인공타액에 보관한 시간에 따라 Table 2와 같이 분류하였다.

4) 재광화 제제의 도포 및 pH-cycling

탈회용액에서 인공우식을 유발시킨 시편은 각 불소 제제를 제조사의 지시대로 도포하고 3 - 4분 동안의 건조과정을 거쳐 ten Cate와 Duijsters[16]가 고안한 방법으로 제조한 인공타액 (1.5 mM CaCl<sub>2</sub>, 0.9 mM NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 0.15 M KCl, pH 7.0)에 침잠시켜 37°C 항온기에 보관하였다.

보관 방법은 24시간을 기준으로 3시간은 탈회용액에, 21시간은 인공타액에 보관하였으며 총 보관 기간은 24시간, 72시간, 7일, 14일, 21일 등 5개 기간으로 나누었다.

5) Micro-CT를 이용한 법랑질 시편의 재광화도 비교

(1) 무기질 밀도(mineral density) 측정

Micro-CT (Quantum GX μCT imaging system, PerkinElmer, Hopkinton, MA, USA)을 사용하여 법랑질 시편을 단층촬영 하였다. X-광선은 90 kV와 88 mA 수준으로, 그리고 field of view (FOV)는 10 mm (voxel size; 20 μm, scanning time; 4 min)로 각각 설정하였다. CT imaging은 Quantum GX 내에 탑재된 기본 소프트웨어인 3D Viewer™를 통해 시각화하였다. 스캐닝 후, 영상분할(image segmentation)은 Analyze software 12.0™ (AnalyzeDirect, Overland Park, KS, USA)을 이용하였으며 이미지 노이즈 감소와 3차원에서 디테일을 보존하기 위해 영상 시리즈를 'Spatial filter' 모듈을 사용하여 5.0 x 5.0 x 5.0 median filter로 필터링하였다. 이와 같이 얻어진 이미지들은 Quantum GX μCT imaging system™ 내의 기본 소프트웨어인 Simple viewer™를 이용하여 법랑질 표면 및 0 - 40 μm, 40 - 80 μm, 80 - 120 μm 깊이에서 무기질 밀도 값(Hounsfield unit value, HUV)을 측정하였다. 각 구간에서의 밀도는 임의의 5개 점에서의 평균값으로 구하였다.

**Table 2.** Grouping of specimens according to the remineralizing agents and the time

Group	Time	Sample No.	Application method
Artificial saliva (Control)	24 hours	10	No treatment, specimens were just kept in artificial saliva
	72 hours	10	
	7 days	10	
	14 days	10	
	21 days	10	
38% SDF	24 hours	10	A thin layer of agent was applied with a microsponge brush in a gentle tapping manner. A gentle flow of compressed air was applied, and the agent was kept dry for 3 min.
	72 hours	10	
	7 days	10	
	14 days	10	
	21 days	10	
5% NaF varnish	24 hours	10	A thin, uniform layer of varnish was applied with a disposable brush in a light painting motion. The varnish was kept undisturbed for 4 min.
	72 hours	10	
	7 days	10	
	14 days	10	
	21 days	10	

(2) 정상치질 수준으로 재광화된 부피 평가

분석을 위해 Analyse의 'Oblique Sections' 기능을 사용하여 데이터 세트를 수동으로 재배치하여 치아의 표준 관상면, 시상면 및 수평면을 시각화하였다. 객체 추출 및 연결된 구성 요소 라벨링을 사용하여 치아의 영역이 각 슬라이스에서 식별되게 하였다. 부피를 측정하고자 하는 관심부위(region of interest, ROI)에 해당하는 법랑질 그리고 탈회된 상부 영역에 해당하는 역치 설정을 통해 3차원 이미지를 형성한 후 중첩하여 정상 치질 수준으로 재광화된 부피를 측정하였다(Fig. 1).

6) SEM/EDS를 이용한 법랑질 표면의 미세구조 관찰 및 성분 분석

SEM (S-4800, Hitachi, Japan)을 이용해 법랑질 표면의 미세구조 관찰하고 EDS (ISIS 310, Oxford instrument, UK)를 이용한 화학적 성분을 분석하였다. 진공 데시게이터를 이용하여 시편들을 충분히 건조시킨 다음 Ion sputter (E-1030, Hitachi, Japan)를 이용하여 백금 코팅을 80초 간 시행하였다. 다음주사전자현미경으로 10,000배로 관찰하였으며 표면의 화학적 성분을 분석하였다.

7) 통계학적 분석

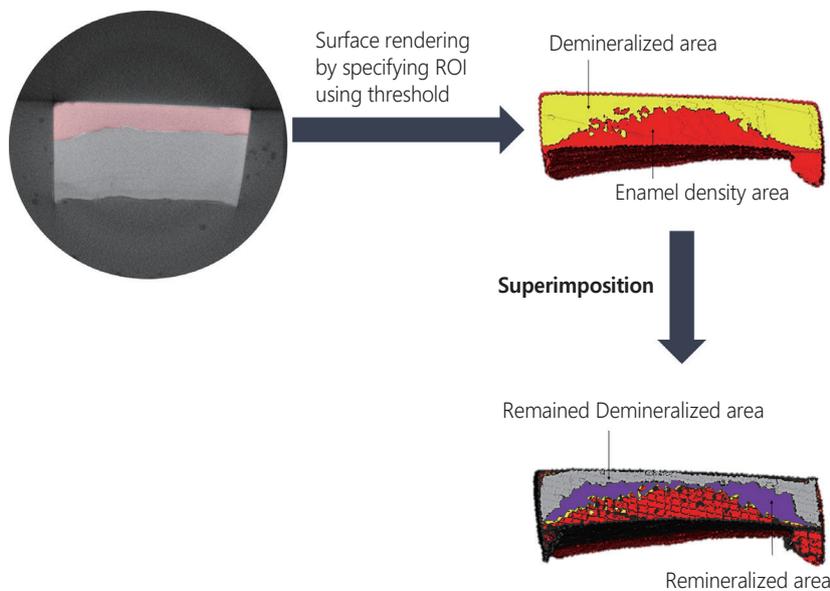
실험 결과는 SPSS(version 18.0.0, SPSS, Chicago IL, USA)를 이용하여 통계분석하였다. Kruskal-Wallis test를 통해 3개 군간 무기질 밀도와 정상수준으로 회복된 법랑질 부피에 대한 차이를 비교하였으며, Bonferroni correction과 Mann-Whitney U test로 사후검정을 시행하였다.

Ⅲ. 연구 성적

1. 법랑질 시편의 재광화도 평가

1) 무기질 밀도 변화의 비교

탈회된 법랑질 표면에 38% SDF와 5% NaF 바니쉬를 도포한 후 1일, 3일, 7일, 14일, 21일 째 무기질 밀도의 변화량( $\Delta$ HUV)는 38% SDF군의 경우 96, 156, 164, 168, 171이였으며 나타났으며 5% NaF 바니쉬군은 38, 66, 73, 83, 86으로 시간 경과에 따라 무기질 밀도가 증가하는 것으로 나타났다( $p < 0.05, p < 0.05$  each). 불소제제를 적용하지 않고 인공타액에 담구어 둔 대조



**Fig. 1.** The 3D image was formed by surface rendering through the threshold setting corresponding to normal enamel and demineralized area. The difference of remineralized volume was reconstructed and measured by superimposing the 2D sliced images obtained before and after remineralization.

군 역시 시간 경과에 따라  $\Delta$ HUV가 증가되었다( $p < 0.05$ ). 38% SDF군은 재광화 후 1일, 3일, 7일, 14일, 21일의 각 측정 시점에서 5% NaF 바니쉬군에 비해  $\Delta$ HUV가 더 크게 나타났다(Fig. 2,  $p = 0.001$ ).

법랑질 내부의 0 - 40  $\mu$ m, 40 - 80  $\mu$ m, 80 - 120  $\mu$ m 깊이에서 38% SDF군과 NaF 바니쉬군 모두 시간이 경과함에 따라  $\Delta$ HUV가 증가하였다( $p < 0.05$ ,  $p < 0.05$  each).

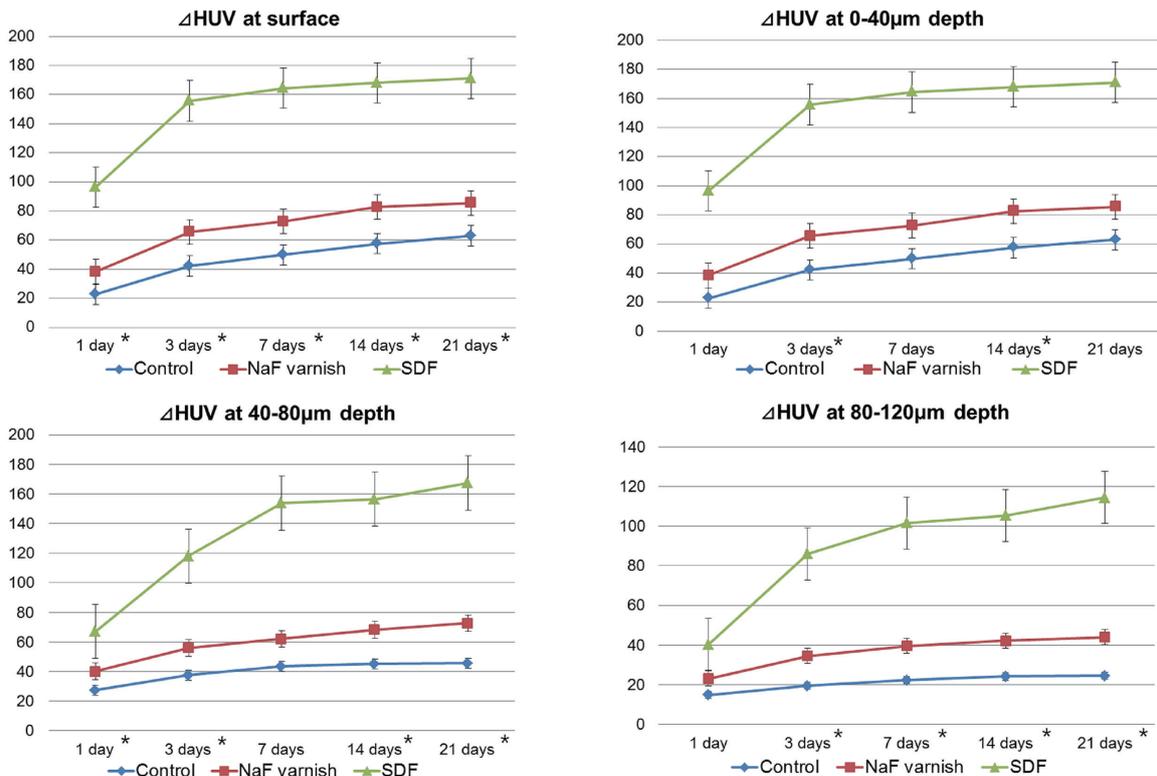
깊이별로 비교한 두 재광화 제제의  $\Delta$ HUV는 8% SDF군의 경우 0 - 40  $\mu$ m 깊이에서 1일, 3일, 7일, 14일, 21일의 측정 시점에서 109, 139, 193, 214, 218이었으며 5% NaF 바니쉬군은 45, 79, 93, 102, 104로 각 측정 시점에서 8% SDF군이 5% NaF 바니쉬군에 비해 더 컸다( $p = 0.01$ ). 40 - 80  $\mu$ m 깊이에서도 8% SDF군은 67, 118, 154, 157, 168을 나타내 40, 56, 62, 68, 73을 보인 5% NaF 바니쉬군에 비해 더 컸다( $p = 0.01$ ). 80 - 120  $\mu$ m 깊이 역시 각 측정 시점에서 38% SDF군이 5% NaF 바니쉬군에 비해  $\Delta$ HUV가 더 컸다(Fig. 2,  $p = 0.001$ ).

2) 정상 수준으로 재광화된 법랑질의 부피 변화 비교

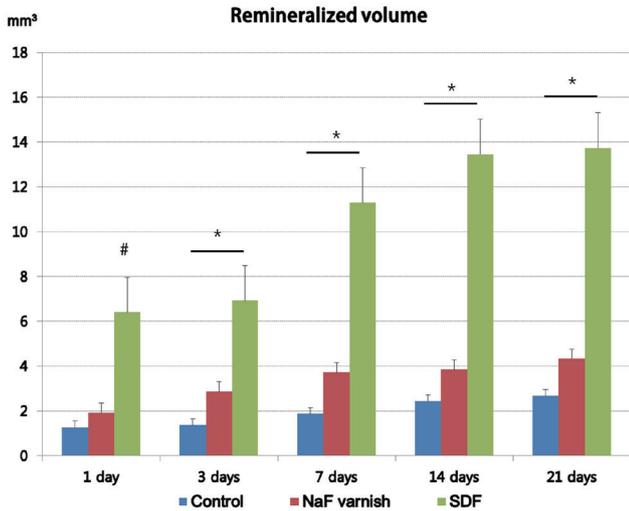
각 시편의 단층 이미지들을 3차원적으로 입체화하여 탈회된 병소가 불소제제를 도포하여 탈회 전 무기질 밀도 수준으로 재광화된 부피를 평가하였다.

38% SDF군은 재광화 후 1일, 3일, 7일, 14일, 21일 때 정상 법랑질의 무기질 밀도 수준으로 회복된 부피는 6.4 mm<sup>3</sup>, 7.0 mm<sup>3</sup>, 11.3 mm<sup>3</sup>, 13.5 mm<sup>3</sup>, 13.7 mm<sup>3</sup>였으며 5% NaF 바니쉬를 적용한 군은 1.9 mm<sup>3</sup>, 2.9 mm<sup>3</sup>, 3.7 mm<sup>3</sup>, 3.9 mm<sup>3</sup>, 4.3 mm<sup>3</sup>로 두 군 모두 시간이 경과함에 따라 증가하였다( $p < 0.05$ ,  $p < 0.05$  each). 대조군도 1.3, 1.4, 1.9, 2.4, 2.7로 시간 경과에 따라 약간 증가하는 것으로 나타났다( $p < 0.05$ ).

38% SDF군은 5% NaF 바니쉬를 적용한 군에 비해 각각의 측정 시점에서 정상수준으로 재광화된 법랑질의 부피가 더 크게 나타났다(Fig. 3,  $p = 0.001$ ). 5% NaF 바니쉬 역시 1일을 제외한 전 측정 시점에서 대조군에 비해 정상수준으로 회복된 법랑질의



**Fig. 2.** Comparison of the  $\Delta$ Hounsfield unit value ( $\Delta$ HUV) of specimens between groups according to the time at each depth. SDF group showed much higher  $\Delta$ HUV than NaF varnish group at all depths, indicating greater remineralization effect. NaF varnish group also showed higher  $\Delta$ HUV than the control group. Kruskal-Wallis test (\* :  $p < 0.05$ ).



**Fig. 3.** Comparison of the remineralized volume recovered to normal enamel density. Kruskal Wallis test followed by Mann-Whitney U test with Bonferroni correction. # : SDF > NaF varnish ( $p = 0.001$ ), SDF > Control ( $p = 0.001$ ), \* : SDF > NaF varnish > Control ( $p < 0.05$ )

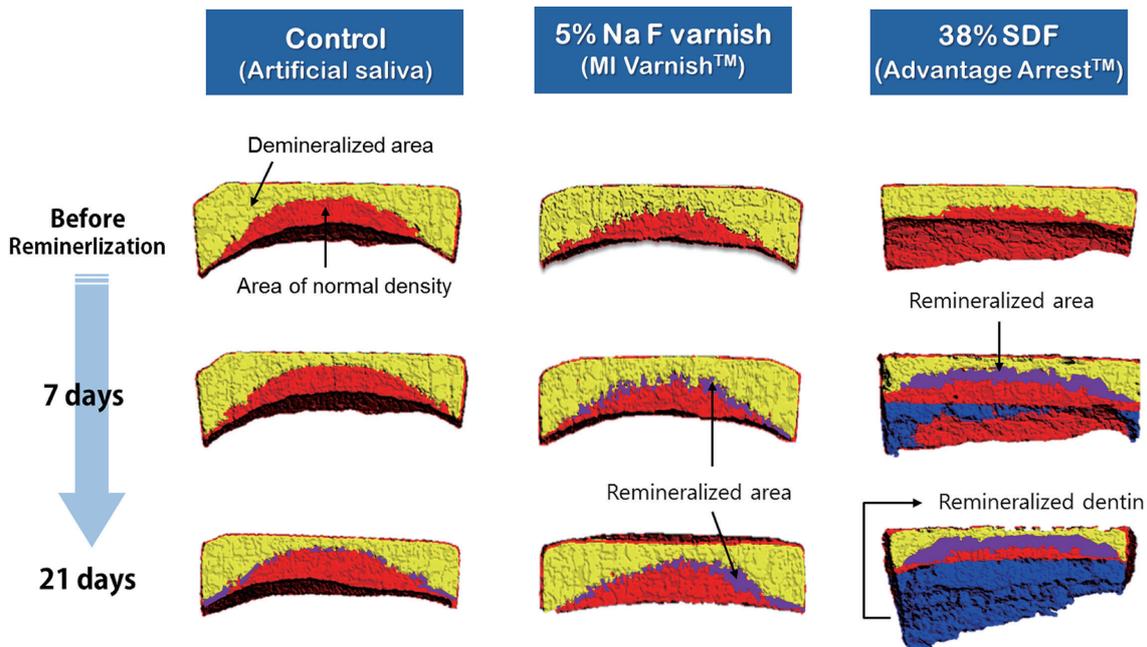
부피가 더 컸다( $p = 0.012$ ).

38% SDF를 적용한 군의 일부 시편에서는 법랑-상아질 경계부 직하방까지 광화가 이루어지는 현상이 관찰되었다(Fig. 4).

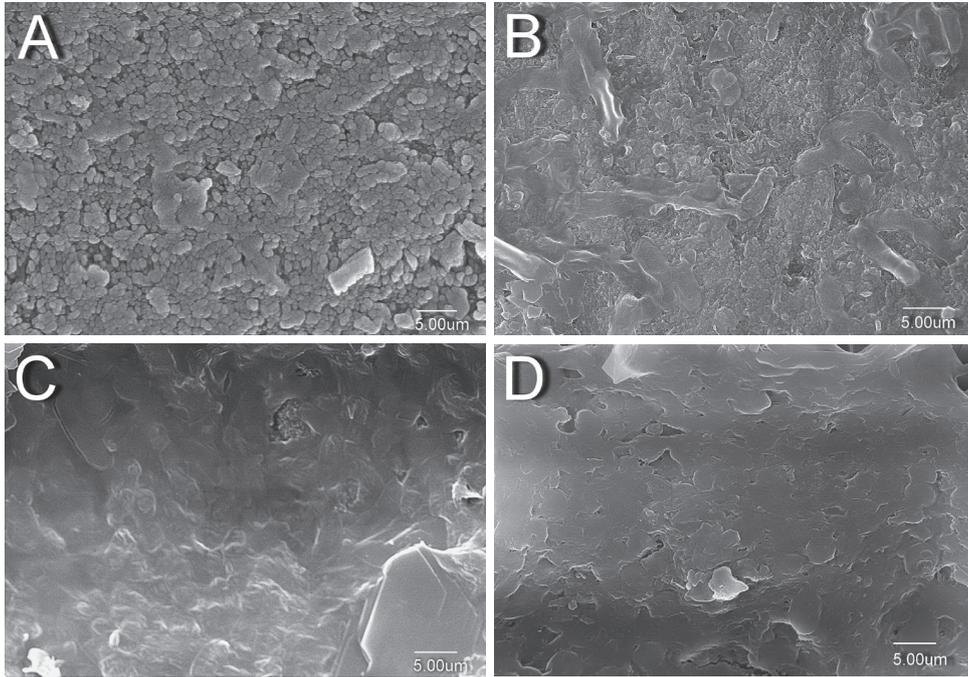
## 2. SEM과 EDS를 이용한 법랑질 표면의 미세구조 및 성분 분석

SEM을 이용하여 탈회된 법랑질, 그리고 38% SDF와 5% NaF 바니쉬를 도포하여 재광화된 군의 법랑질 표면의 미세구조를 관찰하였다. 대조군에서는 interdod 공간이 식별되었고 법랑질 결정의 밀도가 크지 않았다. 재광화 제제를 적용한 실험군은 표면의 불규칙성이 감소하였고 법랑질 표면상에 다수의 결정이 형성되었으며 결정의 밀도는 대조군에 비해 더 크게 관찰되었다. 38% SDF를 적용한 군이 5% NaF 바니쉬를 적용한 군에 비해 거칠기가 더 감소하였고 더 부드러운 표면을 보여 치질의 회복이 더 효율적으로 이루어졌음이 관찰되었다(Fig. 5).

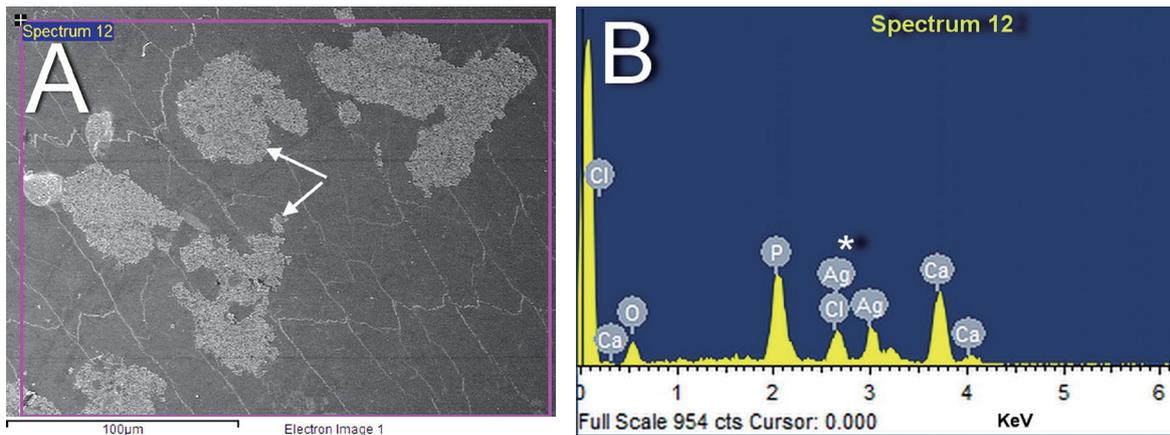
SEM을 이용하여 38% SDF를 적용한 군의 법랑질 표면을 관찰한 결과 은 화합물의 침착이 확인되었고, EDS 분석에서는 법랑질 표층에서 은 이온이 검출되었다(Fig. 6).



**Fig. 4.** Tomographic views of the remineralized area obtained from micro-CT. The remineralized zone that recovered to the enamel density (purple) in the SDF group was larger than that in NaF varnish group. The underlying dentin layer in the SDF group showed enhanced mineral density (blue).



**Fig. 5.** The microstructure of enamel surface observed by SEM ( $\times 10,000$ ) before and after remineralization with pH-cycling for 21 days. (A) Demineralized enamel surface. (B) Control group (Artificial saliva), irregular interrod space and enamel crystals was identified. (C) NaF varnish group, surface irregularities decreased compared to control group. (D) SDF group showed higher crystal density than NaF varnish group.



**Fig. 6.** SEM-EDS analysis of enamel surface composition treated with SDF. (A) SEM image showed the silver complex (arrows) precipitated on enamel surface which was released from SDF. (B) EDS spectrum 12 showed the concentrations of elements present in the zone of SDF application. Ag peak (\*) was observed.

#### IV. 총괄 및 고찰

최근 미국 FDA의 승인을 받으며 전 세계적으로 주목을 받고 있는 38% SDF는 현재 시판되고 있는 불소제제중 가장 많은 불소를 함유하고 있으며 또한 은을 함유하고 있어 은 성분에 의한

미생물의 세포벽 파괴, 호흡방해 그리고 세포복제 억제를 통해 현저한 항균작용을 발휘한다[9-11]

이번 연구에서는 이와 같이 새로 개발, 시판되기 시작한 SDF와 기존에 사용해 오고 있는 대표적인 불소 제제인 NaF 바니쉬의 법랑질 인공우식증에 대한 재광화 효과를 비교, 평가하고자

하였다.

여러 문헌에서 SDF가 치아우식증 예방이나 진행억제에 효과적이라고 보고하고 있지만 정작 현재 가장 많이 사용하고 있는 NaF 바니쉬와의 효과를 비교한 연구는 많지 않으며 또한 학자간 견해를 달리하고 있다[17].

이 연구에서는 38% SDF와 5% NaF 바니쉬 모두 시간이 경과함에 따라 법랑질 표면과 각 단층대에서 무기질 밀도가 서서히 증가되었다. 또한 각 단층에서 측정된 무기질 밀도는 38% SDF가 5% NaF 바니쉬에 비해 높게 나타났다. 탈회되기 전의 정상 법랑질 수준으로 재광화된 법랑질의 부피 변화 또한 38% SDF가 5% NaF 바니쉬에 비해 컸다. SEM을 통해 재광화된 법랑질 표면을 비교해 보아도 5% NaF 바니쉬에 비해 38% SDF를 도포한 시편의 표면이 더 치밀하고 부드러웠다(Fig. 5) 이번 연구 결과를 통해 38% SDF의 재광화 효과가 5% NaF 바니쉬에 비해 큼을 정량적, 정성적으로 확인할 수 있었다.

이와 같이 법랑질에서 38% SDF가 5% NaF 바니쉬에 비해 재광화 효과가 큰 이유에 대해 Yu 등[18]은 액상형인 SDF는 불소가 빠른 시간 내에 치질 내로 침투하므로 침투량이 크며 타액에 의한 손실이 적은 반면 바니쉬 형 제제는 침투속도가 느리므로 불소가 치질로 온전히 침투하기 전 타액이나 음료 등에 의해 씻겨 내려갈 확률이 크기 때문이라고 하였다. 이외에도 불소의 농도 차이를 들 수 있는데, 일반적으로 불소의 농도가 높을수록 치질에 흡수되는 불소의 양이 많다는 사실은 여러 연구에서 찾아볼 수 있다[19-21]. 이번 연구에서도 44,800 ppm 농도의 불소를 함유하고 있는 38% SDF가 22,600 ppm 농도의 5% NaF 바니쉬에 비해 치질로 전달되는 불소량이 많을 것으로 생각되며 이런 차이가 재광화 효과에 영향을 미쳤을 것으로 사료된다.

그러나 SDF와 NaF 바니쉬의 법랑질에서의 재광화 효과를 비교한 다른 연구 보고들에서는 이 둘 사이의 법랑질 재광화 효과는 차이가 없거나 오히려 NaF 바니쉬가 더 컸다고 하였으며 그 이유로 SDF는 은 이온이 치질 무기물에 대해 불소와 경쟁적으로 작용함으로써 불소 침착물의 형성을 방해하기 때문이라고 하였다[12,13]. 그러나 이들 연구는 모두 실험실적 연구로 구강 내에서와 같이 불소 바니쉬가 타액에 의해 씻겨져 내려가는 환경을 구현하지 않았는데, 이런 실험 조건의 차이가 이번 연구와 다른 결과를 나타낼 수 있는 이유 중의 하나로 사료된다.

38% SDF는 5% NaF 바니쉬에 비해 법랑질보다 상아질에서 더 확실한 재광화 효과를 보이는 것으로 알려졌는데, 그 이유는 SDF의 은 성분이 상아질 기질 내 MMPs의 분해를 억제하여 단백질 붕괴로 인한 탈회를 방지해 주기 때문이다[9,10,14]. 이와 같은 사실에 근거한다면 단백질의 함유량이 영구치에 비해 상대적으로 큰 유치와 초기영구치의 경우 법랑질에서의 SDF의 재광

화 효과가 더 클 것으로 예상된다[21].

이번 연구에서 38% SDF와 5% NaF 바니쉬 도포 후 7일까지 법랑질 무기질 밀도가 증가하다 이후 21일까지는 완만하게 증가하는 것으로 나타났다. 이는 불소의 효과가 수 주동안 꾸준히 유지된다는 것을 의미하고 있는데, 다른 연구에서도 3주까지는 재광화 효과가 지속적으로 이루어지는 것으로 보고되고 있다[22]. 이런 현상은 불소 도포를 통해 법랑질 내에 형성된 불화칼슘(CaF<sub>2</sub>)이 불소의 저장고 역할을 하여 재광화 효과가 일정기간 동안 지속되기 때문으로 생각된다[23]. 그러나 불소 도포 효과가 어느 정도까지 지속되는지에 대해서는 좀 더 장기적인 연구가 필요하며 이와 함께 적절한 불소 도포주기를 규명하기 위해서는 일상에서 불소치약을 사용하는 상황도 재현되어야 하므로 실험실적 연구로는 한계가 있으며 임상적인 연구가 병용되어야 한다.

불소가 침투하여 효과를 나타낼 수 있는 유효한 깊이는 5% NaF 바니쉬의 경우 38% SDF에 비해 작지만 분명 120 μm 깊이에서도 대조군과 재광화 정도의 차이를 보이는 것으로 관찰되었다. 불소가 어느 정도 깊이까지 흡수되어 효과를 발휘할지에 대해서는 앞으로 더 많은 연구가 필요하다. 38% SDF를 도포한 일부 표본에서 상아질의 무기질 밀도가 증가된 소견이 관찰되었는데(Fig. 4), 이는 SDF가 상아질에서도 법랑질에서 처럼 재광화를 유도한다는 것을 보여주고 있다.

EDS 분석에서 38% SDF군의 법랑질 표층에 은 화합물이 침착되어 있음이 관찰되었는데, 이와 같은 은 성분은 *S. mutans* 같은 우식 세균의 단백질에서 sulfhydryl기 및 DNA와 상호 작용하여 DNA 2중나선을 해체하고 세포벽 합성 및 세포분열을 억제함으로써 항균작용을 발휘한다[10,11]. 이외에도 SDF는 우식세균의 치면에 대한 부착을 억제하는데, 이 또한 SDF가 우식을 억제하는 기전이 된다[11]. 본 연구에서는 38% SDF의 항균작용을 평가할 수 있는 요소를 다루지 않고 재광화 효과만을 확인할 수 있었는데, 실제 구내에서 은의 항균작용이 함께 이루어진다면 더 큰 항우식 효과를 기대할 수 있을 것으로 사료된다.

Micro-CT를 통하여 관찰한 단층면의 재광화 패턴은 시편의 하부, 즉 깊은 곳에서 먼저 정상 치질 수준으로 재광화가 이루어지고 점차 상부로 진행되는 양상을 보인다. 이는 법랑질 시편의 깊은 곳은 탈회가 덜 되어 상대적으로 더 빨리 정상치질 수준으로 재광화가 이루어진 반면 표층은 탈회가 많이 되어 더 늦게 정상치질 수준에 도달되기 때문으로 생각된다.

이 연구에서 사용한 micro-CT는 시편의 전 처리나 파괴없이 병소의 단면상을 얻는 비침습적, 종단적 측정이 가능하며 3차원적 데이터 분석 등 다각적 분석이 가능하다[24]. 따라서 시편의 전후 변화 상태를 동일한 조건에서 비파괴적으로, 그리고 연속

적으로 관찰, 측정함으로써 오차를 줄일 수 있다는 점이 장점이 있다.

이번 연구를 통해 SDF는 NaF 바니쉬에 비해 법랑질 초기우식 병소에서 재광화 효과가 큼이 확인되었는데, 이런 효과가 뒷받침된다면 SDF는 앞으로 NaF 바니쉬 못지않게 임상적으로 활발히 사용될 수 있을 것으로 기대된다. 그러나 SDF 적용 후 우식병소는 검은색으로 변색 된다는 단점이 있으며 SDF 용액은 불쾌한 금속성 맛을 가지고 있고 일시적이지만 치은 및 점막 자극이 발생할 수 있다[4,5]. 그리고 높은 불소 농도(44,800 ppm)로 인해 어린 소아에게 과량 적용되면 치아 불소증을 유발할 수 있다.

이번 연구의 한계점은 법랑질의 초기우식병소에 한정하여 재광화 효과를 비교, 분석하였다는 점인데, 앞으로 더 깊은 우식증에서의 재광화 효과를 비교해 볼 필요가 있다. SDF는 치아우식증의 예방과 진행억제를 위해 사용된다고 알려지고 있으나 임상가들은 치아우식증의 예방보다는 진행억제에 더 큰 관심과 비중을 두고 있는 것이 사실이다. 따라서 앞으로 SDF가 우식진행 억제효과를 발휘할 수 있는 병소의 깊이, 그리고 효과를 높일 수 있는 도포 방법에 대해서도 연구가 필요할 것으로 사료된다. 또한 SDF가 임상에서 좀 더 유용하게 적용되기 위해서는 변색을 초래하지 않는 SDF의 개발, 그리고 변색을 최소화할 수 있는 적용 방법들에 대한 연구가 뒷받침되어야 할 것으로 생각된다.

## V. 결 론

이 연구는 법랑질 인공우식병소에 38% silver diamine fluoride (SDF)와 5% NaF 바니쉬를 도포한 후 micro-CT와 SEM-EDS를 이용하여 법랑질 무기질 밀도의 변화 및 표면 미세구조 분석을 통해 두 제제의 재광화 효과를 비교하는데 목적이 있다.

38% SDF군과 5% NaF 바니쉬군 모두 탈회된 법랑질의 무기질 밀도와 정상수준으로 재광화된 법랑질의 부피는 시간 경과에 따라 21일까지 지속적으로 증가하였다. 38% SDF군은 5% NaF 바니쉬군보다 법랑질의 측정 깊이대와 경과한 시간대에서 무기질 밀도 증가량( $\Delta$ HUV) 및 정상수준으로 재광화된 법랑질의 부피 모두 컸다( $p = 0.001$ ). SEM을 이용해 관찰한 재광화된 법랑질 표면은 38% SDF군이 5% NaF 바니쉬군에 비해 더 부드러웠다. SEM 사진 상에서 38% SDF를 도포한 법랑질 표면에서 은 화합물 침착이 관찰되었으며 EDS 분석에서는 은 이온이 검출되었다.

이상의 연구 결과를 종합하면 38% SDF의 법랑질 인공우식병소에서의 재광화 효과는 5% NaF 바니쉬보다 더 큼을 확인할 수 있었으며 이러한 결과는 앞으로 SDF가 법랑질 우식증의 처치에 중요한 역할을 할 수 있을 것으로 사료된다.

## Authors' Information

Soyoung Kim <https://orcid.org/0000-0002-7302-5896>

Sangho Lee <https://orcid.org/0000-0003-2513-6871>

Nanyoung Lee <https://orcid.org/0000-0002-4738-9389>

Myeongkwan Jih <https://orcid.org/0000-0001-9579-076X>

## References

1. Cochrane NJ, Cai F, Huq NL, *et al.* : New approaches to enhanced remineralization of tooth enamel. *J Dent Res*, 89:1187-1197, 2010.
2. Twetman S, Stecksén-Blicks C : Urinary fluoride excretion after a single application of fluoride varnish in preschool children. *Oral Health Prev Dent*, 16:351-354, 2018.
3. Gotjamanos T : Pulp response in primary teeth with deep residual caries treated with silver fluoride and glass ionomer cement ('atraumatic' technique). *Aust Dent J*, 41:328-334, 1996.
4. Mei ML, Lo EC, Chu CH : Clinical use of silver diamine fluoride in dental treatment. *Compend Contin Educ Dent*, 37:93-98, 2016.
5. Burgess JO, Vaghela PM : Silver diamine fluoride: A successful anticariogenic solution with limits. *Adv Dent Res*, 29:131-134, 2018.
6. Clemens J, Gold J, Chaffin J : Effect and acceptance of silver diamine fluoride treatment on dental caries in primary teeth. *J Public Health Dent*, 78:63-68, 2018.
7. Crystal YO, Marghalani AA, Ureles SD, *et al.* : Use of silver diamine fluoride for dental caries management in children and adolescents, including those with special health care needs. *Pediatr Dent*, 39:135-145, 2017.
8. Wright JT, White A : Silver diamine fluoride: changing the caries management paradigm and potential societal impact. *NC Med J*, 78:394-397, 2017.
9. Zhao IS, Gao SS, Hiraishi N, *et al.* : Mechanisms of silver diamine fluoride on arresting caries: a literature review. *Int Dent J*, 68:67-76, 2018.
10. Mei ML, Li QL, Chu CH, *et al.* : Antibacterial effects of silver diamine fluoride on multi-species cariogenic biofilm on caries. *Ann Clin Microbiol Antimicrob*, 26:12-14, 2013.
11. Shah S, Bhaskar V, Venkataraghavan K, *et al.* : Efficacy of silver diamine fluoride as an antibacterial as well as anti-plaque agent compared to fluoride varnish and acidulated

- phosphate fluoride gel: an in vivo study. *Indian J Dent Res*, 24:575-581, 2013.
12. Delbem AC, Bergamaschi M, Sasaki KT, *et al.* : Effect of fluoridated varnish and silver diamine fluoride solution on enamel demineralization: pH-cycling study. *J Appl Oral Sci*, 14:88-92, 2006.
  13. Mohammadi N, Farahmand Far MH : Effect of fluoridated varnish and silver diamine fluoride on enamel demineralization resistance in primary dentition. *J Indian Soc Pedod Prev Dent*, 36:257-261, 2018.
  14. Mei ML, Li QL, Chu CH, *et al.* : The inhibitory effects of silver diamine fluoride at different concentrations on matrix metalloproteinases. *Dent Mater*, 28:903-908, 2012.
  15. Trieu A, Mohamed A, Lynch E : Silver diamine fluoride versus sodium fluoride for arresting dentin caries in children: a systematic review and meta-analysis. *Sci Rep*, 9:2115, 2019.
  16. ten Cate JM, Duijsters PP : Alternating demineralization and remineralization of artificial enamel lesions. *Caries Res*, 16:201-210, 1982.
  17. Rosenblatt A, Stamford TC, Niederman R : Silver diamine fluoride: a caries "silver-fluoride bullet". *J Dent Res*, 88:116-125, 2009.
  18. Yu OY, Mei ML, Zhao IS, *et al.* : Remineralisation of enamel with silver diamine fluoride and sodium fluoride. *Dent Mater*, 34:e344-e352, 2018.
  19. Altenburger MJ, Schirmermeister JF, Lussi A, *et al.* : In situ fluoride retention and remineralization of incipient carious lesions after the application of different concentrations of fluoride. *Eur J Oral Sci*, 117:58-63, 2009.
  20. Naumova EA, Niemann N, Aretz L, *et al.* : Effects of different amine fluoride concentrations on enamel remineralization. *J Dent*, 40:750-755, 2012.
  21. Shah SG, Bhaskar V, Chawla S, *et al.* : Efficacy of silver diamine fluoride as a topical fluoride agent compared to fluoride varnish and acidulated phosphate fluoride gel: An in vivo study. *J Pediatr Dent*, 2:5-12, 2014.
  22. Cho SG, Kim JB, Kim JS : Remineralization effects on the demineralized enamel of primary teeth by fluoride varnish. *J Korean Acad Pediatr Dent*, 43:44-50, 2016.
  23. Fernández CE, Tenuta LM, Zárata P, Cury JA : Insoluble NaF in Duraphat® may prolong fluoride reactivity of varnish retained on dental surfaces. *Braz Dent J*, 25:160-164, 2014.
  24. Neboda C, Anthonappa RP, King NM : Tooth mineral density of different types of hypomineralised molars: a micro-CT analysis. *Eur Arch Paediatr Dent*, 18:377-383, 2017.

국문초록

## Silver diamine fluoride와 sodium fluoride (NaF) 바니쉬의 법랑질 인공우식병소 재광화 효과

김소영<sup>1</sup> · 이상호<sup>1,2</sup> · 이난영<sup>1,2</sup> · 지명관<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> 조선대학교 치의학전문대학원 소아치과학교실

<sup>2</sup> 조선대학교 구강생물학연구소

이 연구의 목적은 법랑질 인공우식병소에서 silver diamine fluoride (SDF)와 sodium fluoride (NaF) 바니쉬의 재광화 효과를 비교하는 것이다. 소의 절치를 이용해 인공적으로 법랑질 초기 우식병소를 형성하고 38% SDF와 5% NaF 바니쉬를 도포한 후 인공 타액에 3주 동안 보관하면서 pH-cycling을 시행하여 법랑질 표면과 3개 층의 깊이에서 micro-CT를 이용하여 무기질 밀도를 측정하고 SEM-EDS를 이용하여 법랑질 표면의 미세구조를 분석함으로써 두 제제의 재광화 효과를 비교, 평가하였다.

38% SDF군과 5% NaF 바니쉬군 모두 탈회된 법랑질의 무기질 밀도와 정상수준으로 재광화된 법랑질의 부피는 시간 경과에 따라 21일까지 지속적으로 증가하였다. 38% SDF군은 5% NaF 바니쉬군보다 법랑질의 모든 깊이와 경과한 시간대에서 무기질 밀도 증가량 ( $\Delta$ HUV) 및 정상수준으로 재광화된 법랑질의 부피 모두 컸다( $p = 0.001$ ). SEM을 이용해 관찰한 재광화된 법랑질 표면은 38% SDF군이 5% NaF 바니쉬군에 비해 더 부드러웠다. SEM 사진상에서 38% SDF를 도포한 법랑질 표면에서 은 화합물 침착이 관찰되었으며 EDS 분석에서는 은 이온이 검출되었다.

이상의 연구 결과를 종합하면 38% SDF의 법랑질 인공우식병소에서의 재광화 효과는 5% NaF 바니쉬보다 더 큼을 알 수 있었으며 이러한 결과는 앞으로 SDF가 진행된 우식의 처치에 있어서도 중요한 역할을 할 수 있을 것으로 사료된다.