



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2023-0033908
(43) 공개일자 2023년03월09일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61B 5/00 (2021.01)

(52) CPC특허분류
A61B 5/0088 (2013.01)
A61B 5/0033 (2018.08)

(21) 출원번호 10-2021-0116880
(22) 출원일자 2021년09월02일
심사청구일자 2021년09월02일

(71) 출원인
연세대학교 산학협력단

서울특별시 서대문구 연세로 50 (신촌동, 연세대학교)

(72) 발명자
김백일

서울특별시 마포구 백범로 202, KCC웰츠타워 101동 2502호

박석우

경기도 고양시 일산서구 경의로 605, 후곡마을 1207동 1201호

(74) 대리인

파도특허법인유한회사

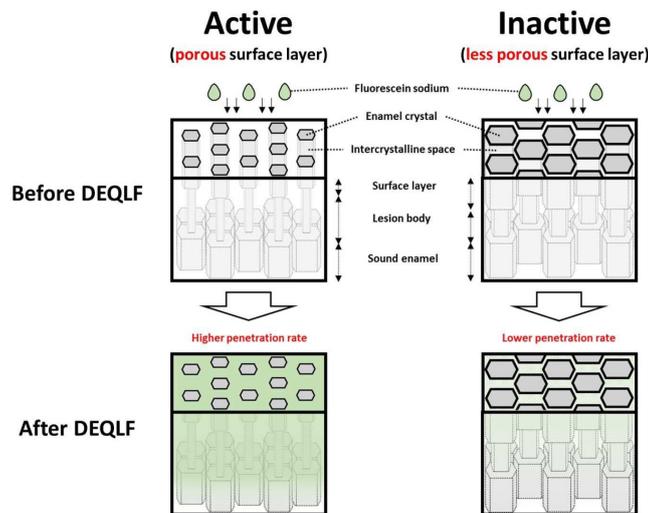
전체 청구항 수 : 총 25 항

(54) 발명의 명칭 **치아 우식의 예후에 관한 정보를 제공하는 방법**

(57) 요약

본 발명은 DEQLF(Dye-Enhanced Quantitative Light-induced Fluorescence) 방법을 이용하여 초기 우식의 활성화 상태에 대한 정보를 제공하는 방법에 관한 것으로, 본 발명에 의할 경우 DEQLF 방법에 의해 정상화된 변수를 객관적인 지표로 사용하여 초기 우식 병소의 활성 상태를 평가함으로써 이에 적합한 예방적 처치를 신속하게 조기에 제공할 수 있다.

대표도 - 도15



(52) CPC특허분류

A61B 5/0071 (2013.01)

A61B 5/4547 (2013.01)

A61B 5/4842 (2013.01)

A61B 5/7275 (2013.01)

A61C 19/04 (2013.01)

A61C 9/0053 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

정량적 광-유도 형광(quantitative light-induced fluorescence, QLF)을 이용하여 치아 시편의 백색 사진 및 형광 사진 중 적어도 하나를 촬영하는 단계를 포함하는, 초기 우식의 활성 상태에 관한 정보를 제공하는 방법.

청구항 2

제 1항에 있어서,

상기 치아는 중절치(앞니), 측절치(앞니), 견치(송곳니), 소구치(작은 어금니), 또는 대구치(큰 어금니)인, 방법.

청구항 3

제 1항에 있어서,

상기 촬영하는 단계 전에 치아 시편을 건조하여 형광 염색제를 침투시키는 전처리 단계를 포함하는, 방법.

청구항 4

제 3항에 있어서,

상기 촬영하는 단계는 형광 염색제를 침투시키기 전, 후의 백색 사진 및 형광 사진 모두를 촬영하는 것인, 방법.

청구항 5

제 4항에 있어서,

상기 형광 사진으로부터 정상 범랑질 및 병소 범랑질 영역을 설정하는 단계를 추가로 포함하는, 방법.

청구항 6

제 5항에 있어서,

상기 형광 사진으로부터 8 비트 회색스케일 이미지(8-bit grayscale image)로 변환하여 정상 범랑질 또는 병소 범랑질의 평균 회색 강도를 측정하는 단계를 추가로 포함하는, 방법.

청구항 7

제 6항에 있어서,

상기에서 측정된 정상 범랑질 또는 병소 범랑질의 평균 회색 강도 값으로부터 하기 식 1의 정상 범랑질에 대한 병소 범랑질의 평균 회색 강도의 변화율(ΔG)을 산출하는 단계를 포함하는, 방법:

[식 1]

$$\Delta G(\%) = (\text{병소 범랑질의 평균 회색 강도} - \text{정상 범랑질의 평균 회색 강도}) / (\text{정상 범랑질의 평균 회색 강도})$$

청구항 8

제 7항에 있어서,

상기 ΔG 로부터 하기 식 2의 형광 염색제에 의한 병소의 형광 변화량($\Delta \Delta G$)을 도출하는 단계를 추가로 포함하는, 방법:

[식 2]

$$\Delta \Delta G(\%) = \Delta G_{\text{형광염색제 침투 후}}(\Delta G_{\text{after assessment}}) - \Delta G_{\text{형광염색제 침투 전}}(\Delta G_{\text{before assessment}})$$

청구항 9

제 8항에 있어서,

상기에서 측정된 $\Delta \Delta G$ 값의 범위가 $a < \Delta \Delta G \leq b$ 의 범위에 속하거나 $\Delta \Delta G > b$ 의 범위에 속하는 경우, 병소의 활성화도가 높아 초기 우식이 활성화 상태로 병소가 더 악화될 것으로 예측하는 방법으로,

상기 a는 병소의 활성화도를 구분하는 $\Delta \Delta G$ 기준값의 최소값을 의미하는 상수이고,

상기 b는 병소의 활성화도를 구분하는 $\Delta \Delta G$ 기준값의 최대값을 의미하는 상수인, 방법.

청구항 10

제 9항에 있어서,

상기 a는 1.25이고, 상기 b는 1.65인, 방법.

청구항 11

제 9항에 있어서,

상기 a는 1.35이고, 상기 b는 1.55인, 방법.

청구항 12

제 8항에 있어서,

상기에서 측정된 $\Delta \Delta G$ 값의 범위가 $\Delta \Delta G \leq a$ 의 범위에 속하는 경우, 병소의 활성화도가 낮아 초기 우식이 비 활성화 상태로 병소가 더이상 진행하지 않을 것으로 예측하는 방법으로,

상기 a는 병소의 활성화도를 구분하는 $\Delta \Delta G$ 기준값의 최소값을 의미하는 상수인, 방법.

청구항 13

제 12항에 있어서,

상기 a는 1.25인, 방법.

청구항 14

제 12항에 있어서,

상기 a는 1.35인, 방법.

청구항 15

정량적 광-유도 형광(quantitative light-induced fluorescence, QLF)을 이용하여 치아 시편의 백색 사진 및 형광 사진 중 적어도 하나를 촬영하기 위한 촬영부;

상기 촬영부에서 얻어진 치아의 백색 사진 및 형광 사진 중 적어도 하나로부터 8 비트 회색스케일 이미지(8-bit grayscale image)로 변환하여 측정된 정상 법랑질 또는 병소 법랑질의 평균 회색 강도 값이 입력되는 입력부; 및

상기 입력부에서 획득된 평균 회색 강도 값으로부터 치아 우식의 활성화 상태를 예측하는 연산부를 포함하는, 초기 우식의 활성화 상태를 예측하기 위한 정보제공장치.

청구항 16

제 15항에 있어서,

상기 촬영부는 형광 염색제를 침투시키기 전, 후의 백색 사진 및 형광 사진 모두를 촬영하는 것인, 정보제공장치.

청구항 17

제 15항에 있어서,

상기 연산부에서는 상기 입력부에서 입력된 정상 범랑질 및 병소 범랑질의 형광 사진 각각으로부터 얻어진 평균 회색 강도 값을 하기 식 1에 대입하여 정상 범랑질에 대한 병소 범랑질의 평균 회색 강도의 변화율(ΔG)을 측정하는 것인, 정보제공장치:

[식 1]

$$\Delta G(\%) = (\text{병소 범랑질의 평균 회색 강도} - \text{정상 범랑질의 평균 회색 강도}) / (\text{정상 범랑질의 평균 회색 강도})$$

청구항 18

제 17항에 있어서,

상기 연산부는 상기에서 측정된 ΔG 로부터 하기 식 2의 형광 염색제에 의한 병소의 형광 변화량($\Delta \Delta G$)를 도출하는 결정부를 추가로 포함하는, 정보제공장치:

[식 2]

$$\Delta \Delta G(\%) = \Delta G_{\text{형광염색제 침투 후}}(\Delta G_{\text{after assessment}}) - \Delta G_{\text{형광염색제 침투 전}}(\Delta G_{\text{before assessment}})$$

청구항 19

제 18항에 있어서,

상기 결정부에서는, 도출된 $\Delta \Delta G$ 값의 범위가 $a < \Delta \Delta G \leq b$ 의 범위에 속하거나 $\Delta \Delta G > b$ 의 범위에 속하는 경우, 병소의 활성화도가 높아 초기 우식이 활성 상태로 병소가 더 악화될 것으로 예측하는 정보제공장치로,

상기 a는 병소의 활성화도를 구분하는 $\Delta \Delta G$ 기준값의 최소값을 의미하는 상수이고,

상기 b는 병소의 활성화도를 구분하는 $\Delta \Delta G$ 기준값의 최대값을 의미하는 상수인, 정보제공장치.

청구항 20

제 19항에 있어서,

상기 a는 1.25이고, 상기 b는 1.65인, 정보제공장치.

청구항 21

제 19항에 있어서,

상기 a는 1.35이고, 상기 b는 1.55인, 정보제공장치.

청구항 22

제 18항에 있어서,

상기 결정부에서는, 도출된 $\Delta \Delta G$ 값의 범위가 $\Delta \Delta G \leq a$ 의 범위에 속하는 경우, 병소의 활성화도가 낮아 초기 우식이 비활성 상태로 병소가 더이상 진행하지 않을 것으로 예측하는 정보제공장치로,

상기 a는 병소의 활성화도를 구분하는 $\Delta \Delta G$ 기준값의 최소값을 의미하는 상수인, 정보제공장치.

청구항 23

제 22항에 있어서,

상기 a는 1.25인, 정보제공장치.

청구항 24

제 22항에 있어서,

상기 a는 1.35인, 정보제공장치.

청구항 25

제 15항에 있어서,

상기 장치는, 상기 연산부에서 평가한 결과를 표시하기 위한 표시부;

상기 입력부 또는 연산부의 동작을 위한 프로그램을 저장할 수 있고, 입/출력되는 데이터들을 임시 저장할 수도 있도록 하는 메모리;

휘발성 또는 비휘발성 저장매체를 포함하는 스토리지; 및

네트워크를 통해 다른 단말기와 유무선 통신을 수행할 수 있게 하는 네트워크 인터페이스; 중 적어도 하나를 더 포함하는, 정보제공장치.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 DEQLF(Dye-Enhanced Quantitative Light-induced Fluorescence) 방법을 이용하여 초기 우식의 예후에 관한 정보를 제공하는 방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 치아는 법랑질과 상아질의 두 개의 층으로 구성되어 있는데, 치아 우식증이란 입 안에 서식하는 박테리아에 의해 설탕, 전분 등이 분해되면서 생기는 산(acid)에 의해 치아의 법랑질이 손상되어 충치가 생기는 것을 말한다. 치아 우식증은 방치할 경우 우식 부위가 넓어지므로 치료 부위도 커지고 치료되기까지의 방법이 매우 번거로워진다. 치수(pulp)까지 진행된 경우에는 신경 치료가 필요하며, 치아 파괴 정도에 따라 기둥(post)을 세우기도 한다. 심지어 치아에 크라운을 씌우거나 심한 경우에는 치아를 뽑 수도 있다. 탈회와 재광화 간의 동적 균형이 무너져 무기질 소실이 우세하게 될 때, 우식 과정이 개시되고, 우식 과정의 초기 단계에서는 초기 우식 병소가 형성된다.

[0003] 초기 우식병소는 온전한 표층이 특징이나, 광물질이 소실되는 방향으로 불균형이 지속될 경우 초기 우식 병소는 표층이 파괴되어 와동형 우식 병소로 진행하게 되는데, 이를 치아 우식의 활성 상태로 볼 수 있다. 이 때, 초기 우식 병소를 가역적으로 회복시키기 위해 재광화 처치가 필요하며, 적극적인 재광화 처치는 초기 우식 병소가 와동형 병소로 진행되지 않게 할 수 있으므로, 우식 병소 활성화도를 조기에 평가함으로써 이에 적합한 예방적 처치를 신속하게 적절히 제공하는 것이 매우 중요하다고 할 것이다.

[0004] 전통적으로, 병소의 활성을 평가하기 위해 초기 우식 병소의 표층 다공성을 정량적으로 측정하는 다양한 방법들이 있다. 이 중 마이크로-CT(micro-CT)와 횡단 미세방사선(transverse microradiography; TMR)은 방사선 투과도를 이용하여 치아의 광물질 함량을 측정하고, 이를 통해 병소의 다공성을 평가할 수 있다. 선행 연구들에 따르면 micro-CT와 TMR로 초기 우식 병소를 촬영하여 병소 표층의 다공성을 측정하였고, 그 결과 활성 병소의 표층이 비활성 병소의 표층보다 덜 다공성이었음을 보고한 바 있다. 하지만, 병소를 평가함에 있어 micro-CT는 발치된 치아를 사용해야 하고, TMR은 절단된 조직을 사용해야 하기 때문에, 두 방법 모두 임상 현장에서 사용할 수 없다. 또한, 방사선을 사용하기 때문에 인체에 유해할 수 있다. 따라서, 임상 현장에서 초기 우식 병소의 활성을 비침습적이고 손쉽게 평가할 수 있도록 치아 우식의 구체적인 활성 상태를 예측할 수 있는 방법에 대한 연구 및 개발이 요구되고 있는 실정이다.

[0005] 본 발명자들은 인공 우식의 병소 표면과 자연 우식의 병소 표면에서의 탈회 및 재광화에 의한 다공성 구조의 차이점을 발견하였고, 활성 및 비활성 우식 병소들의 탈회된 표면과 재광화된 표면의 미세한 다공성 차이를 구분하고자 DEQLF 방법을 이용하여 초기 우식의 병소 활성을 평가하는 방법을 개발하기에 이르렀다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0006] 본 발명의 일 목적은 염료 강화 정량적 광-유도 형광법(Dye-Enhanced Quantitative Light-induced

Fluorescence; DEQLF)을 이용하여 치아 우식의 활성 상태를 예측하기 위한 정보제공방법을 제공하는 것이다.

[0007] 본 발명의 다른 목적은 염료 강화 정량적 광-유도 형광법(DEQLF)을 이용하여 치아 우식의 활성 상태를 예측하기 위한 정보제공장치를 제공하는 것이다.

[0008] 그러나 본 발명이 이루고자 하는 기술적 과제는 이상에서 언급한 과제에 제한되지 않으며, 언급되지 않은 또 다른 과제들은 아래의 기재로부터 당 업계에서 통상의 지식을 가진 자에게 명확하게 이해될 수 있을 것이다.

과제의 해결 수단

[0009] 이하, 본원에 기재된 다양한 구체예가 도면을 참조로 기재된다. 하기 설명에서, 본 발명의 완전한 이해를 위해서, 다양한 특이적 상세 사항, 예컨대, 특이적 형태, 조성물 및 공정 등이 기재되어 있다. 그러나, 특정의 구체예는 이들 특이적 상세 사항 중 하나 이상 없이, 또는 다른 공지된 방법 및 형태와 함께 실행될 수 있다. 다른 예에서, 공지된 공정 및 제조 기술은 본 발명을 불필요하게 모호하게 하지 않게 하기 위해서, 특정의 상세사항으로 기재되지 않는다. "한 가지 구체예" 또는 "구체예"에 대한 본 명세서 전체를 통한 참조는 구체예와 결부되어 기재된 특별한 특징, 형태, 조성 또는 특성이 본 발명의 하나 이상의 구체예에 포함됨을 의미한다. 따라서, 본 명세서 전체에 걸친 다양한 위치에서 표현된 "한 가지 구체예에서" 또는 "구체예"의 상황은 반드시 본 발명의 동일한 구체예를 나타내지는 않는다. 추가로, 특별한 특징, 형태, 조성, 또는 특성은 하나 이상의 구체예에서 어떠한 적합한 방법으로 조합될 수 있다.

[0010] 명세서 내에 특별한 정의가 없으면 본 명세서에 사용된 모든 과학적 및 기술적인 용어는 본 발명이 속하는 기술 분야에서 당업자에 의하여 통상적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 가진다.

[0012] 본 발명의 일 구현 예에 따르면, 정량적 광-유도 형광(quantitative light-induced fluorescence, QLF)을 이용하여 치아의 백색 사진 및 형광 사진 중 적어도 하나를 촬영하는 단계를 포함하는 초기 우식의 활성 상태에 관한 정보를 제공하는 방법에 관한 것이다.

[0013] 본 발명에서 상기 "정량적 광-유도 형광(quantitative light-induced fluorescence, QLF)"은 405 nm의 광원을 조사하여 치아 내 발형광단(fluorophore)에 의하여 발현되는 자가 형광을 디지털 카메라(digital camera)를 통해 시각화하는 광학적 기술로, 본 발명에서는 백색광 및/또는 형광의 광원(예, LED), 바람직하게는 백색광과 형광의 광원을 모두 포함하는 QLF 장비로 치아를 촬영할 수 있다.

[0014] 본 발명에서 상기 "치아 우식(caries lesion)"이란 치아의 머리 부분 표면을 덮고 있고, 치아 상아질을 보호하는 유백색의 반투명하고 단단한 물질을 치아 법랑질 또는 에나멜질이라고 한다. 입 안에 서식하는 박테리아에 의해 설탕, 전분 등이 분해되면서 생기는 산(acid)에 의해 치아의 법랑질이 손상되어 충치가 생기는 것을 치아 우식증이라고 한다.

[0015] 본 발명에서 상기 치아 우식증은 방치할 경우 우식 부위가 넓어지므로 치료 부위도 커지고 복잡해진다. 치수(pulp)까지 진행된 경우에는 신경 치료가 필요하며, 치아 파괴 정도에 따라 기둥(post)을 세우기도 한다. 치아에 크라운을 씌우거나 심한 경우에는 치아를 뽑 수도 있다. 탈회와 재광화 간의 동적 균형이 무너져 무기질 소실이 우세하게 될 때, 우식 과정이 개시되고, 우식 과정의 초기 단계에서는 초기 우식 병소가 형성된다. 이 우식병소는 온전한 표층이 특징이다. 그러나, 광물질이 소실되는 방향으로 불균형이 지속될 경우, 초기 우식 병소는 표층이 파괴되어 와동형 우식 병소로 진행하게 되는데, 이를 치아 우식의 활성 상태로 볼 수 있다.

[0016] 본 발명에서 치아 우식의 활성 상태는 우식 심도가 와동이 형성되지 않은 병소(non-cavitated lesion)인 경우와 표층이 파괴되어 와동이 형성된 병소(cavitated lesion)의 경우를 포함하는 것으로, 간단히 표현하면 초기 우식이 더 심하게 진행하거나 진행할 수 있는 상태를 의미하는 것일 수 있고, 비활성 상태로서 초기 우식 상태가 그대로 유지되는 경우가 아닌 한 이에 제한되지 않고 모두 포함될 수 있다.

[0017] 본 발명은 중절치(앞니), 측절치(앞니), 견치(송곳니), 소구치(작은 어금니), 또는 대구치(큰 어금니)의 다양한 치아에 있어서 우식의 활성 상태를 예측할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0018] 본 발명에서는 치아의 일 부위 또는 전 부위를 QLF로 촬영할 수 있으며, 촬영 부위를 특별히 제한하지 않는다.

[0019] 본 발명에서는 상기 촬영하는 단계 전에 치아 시편을 건조하여 형광 염색제를 침투시키는 전처리 단계를 추가로 포함할 수 있다.

- [0020] 본 발명에서는 치아에 형광 염색제 침투 전 또는 형광 염색제 침투 후 QLF로 촬영할 수 있으나, 바람직하게는 치아의 형광 염색제 침투 전 및 치아의 형광 염색제 침투 후 QLF를 촬영할 수 있다.
- [0021] 본 발명에서 상기 정량적 광-유도 형광(QLF) 촬영 전 치아에 형광 염색제를 적용하고 QLF system으로 관찰하는 방법으로 염색제가 침투된 정량적 광-유도 형광(Dye-Enhanced QLF, DEQLF)을 사용하였다. DEQLF는 형광 염색제의 밝은 자가 형광을 통해 병소의 어두운 자가 형광을 밝게 만들 수 있다. 이 방법은 주로 우식병소를 조기에 탐지하기 위해 사용되었을 뿐이다. 본 발명은 형광 염색제를 이용하여 탈회 병소가 재광화 병소보다 더 다공성이기 때문에 형광 염색제가 더 많이 침투하는 것을 발견하여 이러한 병소의 다공성 구조를 평가하고 탈회 병소와 재광화 병소를 구분하는데 사용함으로써 우식 병소의 활성 상태를 예측하기 위해 사용하였다. 이처럼 본 발명의 활성 검사는 탐지하는 것과는 차별화된 특성을 가진 것으로 목적에 있어 차별성이 있는 것이다.
- [0022] 본 발명에서 상기 형광 염색제로는 플루오레세인 소듐(fluorescein sodium), 메틸 레드(methyl red) 또는 포토프로테인(photoprotein, CALCiViS[®])을 사용할 수 있고, 바람직하게는 플루오레세인 소듐을 사용할 수 있으나, 형광을 발하여 치아의 상태를 확인할 수 있는 염색제에 해당한다면 이에 제한되는 것은 아니다. 상기 염색제 중 플루오레세인 소듐 염색제는 FDA(U.S. Food and Drug Association)에서 승인한 형광 염료 중의 하나로 무독성이며, 체내에서 어떠한 화학적 결합도 하지 않아 체외로 배출이 용이하다. 이러한 장점들로 인해 의학 영역에서 혈관조영술의 조영제 그리고 각막결손탐지를 위한 염색제로 사용되고 있는 염색제 중의 하나이다.
- [0023] 본 발명에서 상기 형광 염색제의 적정 농도는 3차 증류수와 에탄올이 1 대 1의 비율로 혼합된 용매 100 ml 당 0.027 mg 내지 0.047 mg의 플루오레세인 소듐을 사용할 수 있으며, 보다 바람직하게는 0.033 mg 내지 0.039 mg의 플루오레세인 소듐이 포함되어 있을 시 법랑질의 형광과는 구별할 수 있지만 인체 유해성은 없는 최적의 농도로 미세한 광물질의 결합(우식병소 또는 균열) 또는 치태의 다공성 구조에 쉽게 침투할 수 있다.
- [0024] 본 발명에서 상기 형광 염색제의 적용 시간은 병소를 조기에 탐지하기 위해 사용한 기존 선행 연구와는 다르게 형광 염색제의 침투 시간을 줄여 병소 전체의 다공성 구조가 아닌 병소 표층의 다공성 구조에서 발생하는 현상만을 집중적으로 관찰하기 위하여, 활성 병소 또는 비활성 병소들에 형광 염색제를 6 내지 15 초 간격, 바람직하게는 10 초 간격으로 처치할 수 있고, 처치 시간은 2 내지 5 분간 이루어질 수 있으며, 바람직하게는 3 분간 처치하여 QLF 시스템으로 관찰할 수 있다. 본 연구에서 적용한 DEQLF 방법은 10 초라는 짧은 침투 시간만으로도 초기 우식 병소의 활성 상태를 구별하는 것이 가능하도록 함으로써 실제 임상 현장에서도 시간 효율적으로 활성 상태를 평가하는 것이 가능하다.
- [0025] 본 발명에서는 상기와 같이 QLF로 치아를 촬영하여 백색 사진 및 형광 사진 중 적어도 하나, 바람직하게는 형광 사진, 보다 바람직하게는 백색 사진 및 형광 사진을 얻을 수 있다.
- [0026] 본 발명에서는 치아 우식의 활성 상태를 예측하기 위하여, 상기에서 얻어진 형광 사진으로부터 정상 법랑질 및 병소 법랑질 영역을 설정하는 단계를 추가로 포함할 수 있다.
- [0027] 본 발명에서는 상기 얻어진 형광 사진으로부터 8 비트 회색스케일 이미지(8-bit grayscale image)로 변환하여 정상 법랑질 또는 병소 법랑질의 평균 회색 강도를 측정할 수 있다.
- [0028] 본 발명에서는 상기에서 측정된 정상 법랑질 또는 병소 법랑질의 평균 회색 강도 값으로부터 하기 식 1의 정상 법랑질에 대한 병소 법랑질의 평균 회색 강도의 변화율(ΔG)을 산출하는 단계를 포함할 수 있다:
- [0029] [식 1]
- [0030] $\Delta G(\%) = (\text{병소 법랑질의 평균 회색 강도} - \text{정상 법랑질의 평균 회색 강도}) / (\text{정상 법랑질의 평균 회색 강도})$
- [0031] 상기 식 1에서의, ΔG (정상 법랑질에 대한 병소 법랑질의 평균 회색 강도의 변화율)는 치아의 자가형광 광도와 유사한 특성으로 인하여 초록 강도(green intensity)인 광물질의 밀도를 의미하는 기존의 변수가 가지는 한계를 극복하기 위하여 본 발명자들이 새로운 변수로 제안한 것으로, QLF로 촬영된 형광 이미지를 8-비트 회색 이미지로 변환시키고 난 후, 형광의 명암(brightness)를 평가하고자 회색 강도(gray intensity) 값을 측정하여 이용한 것으로 재정의하였고, 이를 최종 변수로써 사용하였다.
- [0032] 또한, 본 발명에서는 치아 우식의 활성 상태를 예측하기 위하여, 상기 얻어진 형광 사진으로부터 병소 법랑질의 평균 회색 강도 값 및 정상 법랑질의 평균 회색 강도 값 중 적어도 하나를 측정할 수 있다.
- [0033] 또한, 본 발명에서 상기 병소 법랑질의 평균 회색 강도 값 및 정상 법랑질의 평균 회색 강도 값 각각은 상기 형광 사진 중 어느 한 임의의 스팟(spot)에서 측정된 값일 수 있고, 혹은 복수의 스팟에서 측정된 값의 평균 값일

수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 여기서 상기 복수의 스팟에서 측정된 값의 평균 값인 경우, 복수의 스팟은 일부 면적이 겹치거나 겹치지 않을 수 있다.

[0034] 본 발명에서 상기 병소 범랑질의 평균 회색 강도 값 및 정상 범랑질의 평균 회색 강도 값을 측정하기 위한 임의의 스팟의 형상이나 크기는 특별히 제한하지 않으나, 예를 들면 직경이 0.1 내지 10 cm, 바람직하게는 직경이 0.5 내지 5 cm, 보다 바람직하게는 직경이 1 cm인 원형일 수 있다.

[0035] 본 발명의 일 예시에서는 치아 우식의 활성 상태를 예측하기 위하여, 상기 측정된 병소 범랑질의 평균 회색 강도 값 및 정상 범랑질의 평균 회색 강도 값을 상기 식 1에 대입하여 정상 범랑질에 대한 병소 범랑질의 평균 회색 강도의 변화율인 G 값을 측정할 수 있다.

[0036] 본 발명에서는 상기 식 1로부터 얻어진 정상 범랑질에 대한 병소 범랑질의 평균 회색 강도의 변화율인 ΔG 값으로부터 하기 식 2의 형광 염색제에 의한 병소의 형광 변화량($\Delta \Delta G$)을 도출하는 단계를 추가로 포함할 수 있다:

[식 2]

$$[0038] \Delta \Delta G(\%) = \Delta G_{\text{형광염색제 침투 후}}(\Delta G_{\text{after assessment}}) - \Delta G_{\text{형광염색제 침투 전}}(\Delta G_{\text{before assessment}})$$

[0039] 본 발명의 일 예시에서는 상기 식 2로부터 얻어진 병소의 형광 변화량인 $\Delta \Delta G$ 값이 클수록 치아 우식병소의 활성화도가 높을 것, 즉 해당 치아 우식의 병소가 더 악화하는 방향으로 진행할 것으로 예측할 수 있고, 바람직하게는 $\Delta \Delta G$ 값의 범위가 $1.25 < \Delta \Delta G \leq 1.65$ 의 범위에 속하거나 $\Delta \Delta G > 1.65$ 의 범위에 속하는 경우, 치아 우식이 활성 상태인 것으로 예측할 수 있으며, 보다 바람직하게는 $\Delta \Delta G$ 값의 범위가 $1.35 < \Delta \Delta G \leq 1.55$ 의 범위에 속하거나 $\Delta \Delta G > 1.55$ 의 범위에 속하는 경우, 치아 우식이 활성 상태인 것으로 예측할 수 있다.

[0040] 본 발명의 다른 예시에서는 상기 식 2로부터 얻어진 병소의 형광 변화량인 $\Delta \Delta G$ 값이 작을수록 치아 우식병소의 활성화도가 낮을 것, 즉 해당 치아 우식의 병소가 더 이상 악화되지 않는 방향으로 진행할 것으로 예측할 수 있고, 바람직하게는 $\Delta \Delta G$ 값의 범위가 $\Delta \Delta G \leq 1.25$ 의 범위에 속하는 경우, 치아 우식이 비활성 상태인 것으로 예측할 수 있으며, 보다 바람직하게는 $\Delta \Delta G$ 값의 범위가 $\Delta \Delta G \leq 1.35$ 의 범위에 속하는 경우, 치아 우식이 비활성 상태인 것으로 예측할 수 있다.

[0041] 본 발명에서 우식 병소는 정상 범랑질보다 적은 광물질 함량으로 인해 빈 공간이 더 많아서 광자의 자유 경로 길이가 짧기에 광자는 투과되지 못하고 산란할 확률이 높아지므로 우식 병소는 정상 범랑질에 비해 더 어두운 형광을 발하게 된다. 형광 염색제를 이용한 본 발명의 QLF 방법을 이용함으로써 식 1 및 식 2의 정상 범랑질에 대한 병소 범랑질의 평균 회색 강도의 변화율인 ΔG 값과 병소의 형광 변화량인 $\Delta \Delta G$ 값을 통해 활성 상태를 수치화함으로써 정량화된 변수를 객관적 지표로 사용하였는 바 치아 우식의 활성화도를 정밀하게 예측하여 평가할 수 있다.

[0042] 또한, 치아 우식의 탐지는 우식 병소의 유무만을 판단하는 것이며, 치아 우식의 활성 검사는 우식 병소가 더 심하게 진행할 것인지를 평가하는 것으로 임상적으로 활성 상태의 평가는 치아 우식의 탐지와는 전혀 다른 목적을 가진 행위로 보고 있다. 치아 우식의 활성화도에 따라 질병의 예후는 다르며, 이에 따른 처치도 달라지게 된다. 치아 우식이 활성 상태일 때 우식 심도가 와동이 형성되지 않은 병소(non-cavitated lesion)인 경우, 미세침습적 레진 침윤법 또는 불소 처치와 같은 예방적 처치를 수행해야 하며, 더 나아가 와동이 형성된 병소(cavitated lesion)의 경우에는 비가역적인 상태이기 때문에 수복적 처치(아말감 또는 레진 등)를 수행해야 한다. 반면, 치아 우식이 비활성 상태일 때에는 와동 형성과 관계없이 처치를 수행하지 않는다. 이렇듯 치아 우식의 활성화도에 따라 이에 적합한 예방적 처치가 달라지는 점에서 본 발명의 방법을 이용하면 치아 우식의 활성 상태를 조기에 정확히 평가할 수 있다.

[0044] 본 발명의 다른 구현 예에 따르면, 정량적 광-유도 형광(quantitative light-induced fluorescence, QLF)을 이용하여 치아의 백색 사진 및 형광 사진 중 적어도 하나를 촬영하기 위한 촬영부;

[0045] 상기 촬영부에서 얻어진 치아의 백색 사진 및 형광 사진 중 적어도 하나로부터 8 비트 회색스케일 이미지(8-bit grayscale image)로 변환하여 측정된 정상 범랑질 또는 병소 범랑질의 평균 회색 강도 값이 입력되는 입력부; 및

[0046] 상기 입력부에서 획득된 평균 회색 강도 값으로부터 치아 우식의 활성 상태를 예측하는 연산부를 포함하는, 초기 우식의 활성 상태를 예측하기 위한 정보제공장치에 관한 것이다.

- [0047] 본 발명에서 상기 촬영부는 정량적 광-유도 형광을 이용하여 치아의 자가 형광을 촬영이 가능한 디지털 카메라(digital camera)를 포함할 수 있고, 백색광 및/또는 형광의 광원, 바람직하게는 백색광과 형광의 광원을 모두 포함할 수 있다.
- [0048] 본 발명에서 상기 촬영부에 의해 상기와 같이 QLF로 치아를 촬영하여 백색 사진 및 형광 사진 중 적어도 하나, 바람직하게는 형광 사진, 보다 바람직하게는 백색 사진 및 형광 사진을 얻을 수 있고, 가장 바람직하게는 형광 염색제를 침투시키기 전, 후의 백색 사진 및 형광 사진 모두를 촬영하여 얻을 수 있다.
- [0049] 본 발명에서 상기 입력부에서는 상기 촬영부에서 얻어진 백색 사진 및 형광 사진 중 적어도 하나로부터 8 비트 회색스케일 이미지(8-bit grayscale image)로 변환하여 평균 회색 강도 값이 측정 및 입력될 수 있고, 바람직하게는 상기 형광 사진으로부터 얻어진 정상 범랑질의 평균 회색 강도 값 또는 병소 범랑질의 평균 회색 강도 값 중 적어도 하나를 측정하여 입력될 수 있다.
- [0050] 본 발명에서 상기 연산부에서는 상기 입력부에서 입력된 정상 범랑질의 평균 회색 강도 값 또는 병소 범랑질의 평균 회색 강도 값 중 적어도 하나를 이용하여 치아 우식의 활성 상태를 예측할 수 있다.
- [0051] 본 발명의 일 예시에서, 상기 연산부에서는 상기 입력부에서 입력된 정상 범랑질의 평균 회색 강도 값 및 병소 범랑질의 평균 회색 강도 값을 하기 식 1에 대입하여 정상 범랑질에 대한 병소 범랑질의 평균 회색 강도의 변화율인 ΔG 값을 측정할 수 있다:
- [0052] [식 1]
- [0053] $\Delta G(\%) = (\text{병소 범랑질의 평균 회색 강도} - \text{정상 범랑질의 평균 회색 강도}) / (\text{정상 범랑질의 평균 회색 강도})$
- [0054] 본 발명의 연산부에서 상기 식 1로부터 얻어진 ΔG 로부터 하기 식 2의 형광 염색제에 의한 병소의 형광 변화량($\Delta \Delta G$)를 도출하는 결정부를 추가로 포함할 수 있다:
- [0055] [식 2]
- [0056] $\Delta \Delta G(\%) = \Delta G_{\text{형광염색제 침투 후}}(\Delta G_{\text{after assessment}}) - \Delta G_{\text{형광염색제 침투 전}}(\Delta G_{\text{before assessment}})$
- [0057] 본 발명의 일 예시에서, 상기 연산부 내 결정부에서 상기 식 2로부터 도출된 형광 염색제에 의한 병소의 형광 변화량인 $\Delta \Delta G$ 값이 클수록 치아 우식병소의 활성화도가 높을 것, 즉 해당 치아 우식의 병소가 더 악화하는 방향으로 진행할 것으로 예측할 수 있고, 바람직하게는 $\Delta \Delta G$ 값의 범위가 $1.25 < \Delta \Delta G \leq 1.65$ 의 범위에 속하거나 $\Delta \Delta G > 1.65$ 의 범위에 속하는 경우, 치아 우식이 활성 상태인 것으로 예측할 수 있으며, 보다 바람직하게는 $\Delta \Delta G$ 값의 범위가 $1.35 < \Delta \Delta G \leq 1.55$ 의 범위에 속하거나 $\Delta \Delta G > 1.55$ 의 범위에 속하는 경우, 치아 우식이 활성 상태인 것으로 예측할 수 있다.
- [0058] 본 발명의 다른 예시에서, 상기 연산부 내 결정부에서 상기 식 2로부터 도출된 형광 염색제에 의한 병소의 형광 변화량인 $\Delta \Delta G$ 값이 작을수록 치아 우식병소의 활성화도가 낮을 것, 즉 해당 치아 우식의 병소가 더 이상 악화되지 않는 방향으로 진행할 것으로 예측할 수 있고, 바람직하게는 $\Delta \Delta G$ 값의 범위가 $\Delta \Delta G \leq 1.25$ 의 범위에 속하는 경우, 치아 우식이 비활성 상태인 것으로 예측할 수 있으며, 보다 바람직하게는 $\Delta \Delta G$ 값의 범위가 $\Delta \Delta G \leq 1.35$ 의 범위에 속하는 경우, 치아 우식이 비활성 상태인 것으로 예측할 수 있다.
- [0059] 본 발명의 장치에서는 상기 연산부에서 예측한 결과를 표시하기 위한 표시부를 더 포함할 수 있다. 본 발명에서 상기 표시부는 디스플레이 및 스피커 등의 출력수단으로 구성될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0060] 본 발명의 장치에서는 상기 입력부 또는 연산부의 동작을 위한 프로그램을 저장할 수 있고, 입/출력되는 데이터들을 임시 저장할 수도 있도록 하는 메모리를 더 포함할 수 있다. 본 발명에서 상기 메모리는 ROM(Read Only Memory) 및 RAM(Random Access Memory) 등을 포함할 수 있다.
- [0061] 또한, 본 발명의 장치에서는 상기 메모리와 같이 다양한 종류의 휘발성 또는 비휘발성 저장매체를 포함하는 스토리지를 더 포함할 수 있다. 상기 스토리지는 인터넷(Internet) 상에서 메모리의 저장 기능을 수행하는 웹 스토리지(Web storage)로 구현될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0062] 또한, 본 발명의 장치는 네트워크를 통해 다른 단말기와 유무선 통신을 수행할 수 있게 하는 네트워크 인터페이스를 추가로 더 포함할 수 있다. 본 발명에서 상기 네트워크 인터페이스는 무선 인터넷, 이동 통신, 및 근거리 통신 등의 통신기술 중 어느 하나 이상을 사용할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0063] 도 16은 본 발명의 일 실시예에 따른 치아 우식의 활성 상태를 예측하기 위한 정보제공장치를 나타낸 도면으로,

촬영부(100), 입력부(110), 연산부(120), 표시부(130), 메모리(140), 스토리지(150) 및 네트워크 인터페이스(160)를 포함할 수 있다.

[0064] 본 발명의 정보제공장치에서 치아 우식, QLF, 형광 염색제 및 우식의 활성 상태 등에 관한 기재는 앞서 기재된 바와 중복되어 명세서의 과도한 복잡을 피하기 위하여 이하 그 자세한 기재를 생략한다.

발명의 효과

[0065] 본 발명은 DEQLF(Dye-Enhanced Quantitative Light-induced Fluorescence) 방법을 이용하여 초기 우식의 예후에 관한 정보를 제공하는 방법에 관한 것으로, 본 발명에 의한 경우 DEQLF 방법에 의해 정량화된 변수를 객관적인 지표로 사용하여 초기 우식 병소의 활성 상태를 평가함으로써 초기 우식의 예후를 예측하고 조기에 적합한 예방적 처치에 기여할 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [0066] 도 1은 본 발명의 일 실시예에 따른 소 치아 시편을 이용한 인공 우식 모델의 플로우 차트를 나타낸 도이다.
- 도 2는 본 발명의 일 실시예에 따른 사람 치아 시편을 이용한 자연 우식 모델의 플로우 차트를 나타낸 도이다.
- 도 3은 본 발명의 일 실시예에 따른 정량적 광유도 형광(QLF) 방법의 모식도를 나타낸 도이다.
- 도 4는 본 발명의 일 실시예에 따른 염료 강화 정량적 광유도 형광(Dye-enhanced Quantitative light-induced fluorescence; DEQLF) 방법의 모식도를 나타낸 도이다.
- 도 5 및 도 6은 본 발명의 일 실시예에 따른 이미지 분석 소프트웨어를 사용하여 형광 매개변수(ΔG 및 $\Delta \Delta G$)를 계산하는 절차를 간략히 나타낸 도이다.
- 도 7은 본 발명의 일 실시예에 따른 QLF 방법을 수행하여 표본의 대표적인 형광 및 조직학적 이미지를 나타낸 도이다.
- 도 8은 본 발명의 일 실시예에 따른 DEQLF 방법을 수행하여 표본의 대표적인 형광 및 조직학적 이미지를 나타낸 도이다.
- 도 9는 본 발명의 일 실시예에 따른 QLF 방법과 DEQLF 방법을 수행하여 우식 병변 간 형광 염색제에 의한 병소의 형광 변화량($|\Delta \Delta G|$) 값을 비교한 결과를 나타낸 도이다.
- 도 10은 본 발명의 일 실시예에 따른 자연 우식의 활성 DEQLF 및 비활성 DEQLF 병변의 예시를 나타낸 도이다.
- 도 11은 본 발명의 일 실시예에 따른 QLF 또는 DEQLF를 수행하여 활성 Nyvad 병변과 비활성 Nyvad 병변의 형광 염색제에 의한 병소의 형광 변화량($\Delta \Delta G$)을 비교한 도이다.
- 도 12는 본 발명의 일 실시예에 따른 QLF 또는 DEQLF를 수행하여 활성 DEQLF 병변과 비활성 DEQLF 병변의 형광 염색제에 의한 병소의 형광 변화량($\Delta \Delta G$)을 비교한 도이다.
- 도 13 및 도 14는 본 발명의 일 실시예에 따른 기존 방법(Nyvad criteria)과 DEQLF 방법에 의한 $\Delta \Delta G$ 의 타당도를 평가한 결과를 나타낸 도이다.
- 도 15는 본 발명의 일 실시예에 따른 DEQRf 방법을 수행하여 우식 병변의 형광 변화가 나타나는 과정을 간략히 나타낸 도이다.
- 도 16은 본 발명의 일 실시예에 따른 치아 우식의 활성화도를 예측하기 위한 정보제공장치를 나타낸 도이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0067] 이하, 실시예를 통하여 본 발명을 더욱 상세히 설명하고자 한다. 이들 실시예는 오로지 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위한 것으로서, 본 발명의 요지에 따라 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 제한되지 않는다는 것은 당업계에서 통상의 지식을 가진 자에게 있어서 자명할 것이다.

[0069] **연구재료 및 방법**

[0070] **준비에 1: 인공우식병소 활성 평가를 위한 시편 제작**

- [0071] 1.1. 소 치아 시편 제작(bovine teeth preparation)
- [0072] 치아 균열증, 치아 우식증, 치아 부식증, 치아 불소증 그리고 법랑질 형성부전증을 가지지 않은 126개의 건전한 우전치를 선정하였다. 4 X 3 X 3 mm 의 크기를 가진 시편을 제작하기 위해 다이아몬드 디스크와 저속 톱(NTI-KAHLA GmbH, Kahla, Germany)으로 모든 우전치 순면을 절삭하였다. 모든 시편을 9 mm 직경의 구멍이 있는 아크릴 몰드(20 X 12 X 7 mm)에 매몰하고 자가 중합형 레진(Ortho-Jet, Lang Dental Manufacturing, Illinois, USA)으로 고정하였다. 시편의 법랑질 표면을 물과 800, 1200, 및 2000 grit의 연마지(SiC sand paper, R&B Inc., Daejeon, Republic of Korea)로 평평하게 연마하였다.
- [0073] 1.2. 활성 우식병소 형성
- [0074] 본 연구에서는 인공적으로 탈회 병소를 형성하여 활성 병소를 모사하였다.
- [0075] 126개의 시편들을 세 활성군들(Ax, x는 탈회 기간)에 균등하게 배정하였다(하기 표 1 참조). 또한, 활성군에서 다양한 표층 다공성을 가진 병소들을 형성하기 위해, 각각 탈회 기간을 3 일(A3), 5 일(A5), 10 일(A10)로 설정하였다. 그리고 병소를 형성하기 전, 내산성 바니쉬를 시편의 표면에 2 X 3 mm 크기로 도포하여 정상 법랑질을 보호하였다.
- [0076] 탈회 병소를 형성함에 있어 먼저, 하이드록시 아파타이트(calcium phosphate tribasic, Sigma, USA)가 50 % 포화되어 있는 pH 4.8의 탈회 용액(1 % Carbopol ETD 2050 폴리머가 포함된 0.1 M Lactic acid gel)을 제작하였다(White 1987). 이어서 50 ml conical tube에 탈회 용액을 40 ml씩 담았고, 시편을 침적시켜 37 °C로 설정된 항온기에 보관하였다. 탈회는 각 군마다 설정된 기간 동안 수행되었다. 탈회 과정이 끝난 뒤, 탈회용액에서 시편들을 꺼내고, 시편들의 표면에 남아 있는 탈회용액을 증류수로 세척하였다.

표 1

그룹	설명	설명
활성군 (Active)	A3(n=21)	3일 동안 탈회된 우식병소
	A5(n=21)	5일 동안 탈회된 우식병소
	A10(n=21)	10일 동안 탈회된 우식병소
비활성군 (Inactive)	I3(n=21)	3일 동안 탈회된 활성병소를 10일 동안 재광화시킨 우식병소
	I5(n=21)	5일 동안 탈회된 활성병소를 10일 동안 재광화시킨 우식병소
	I10(n=21)	10일 동안 탈회된 활성병소를 10일 동안 재광화시킨 우식병소

- [0078] 1.3. 비활성 우식병소 형성
- [0079] 본 연구에서는 인공적으로 재광화된 병소를 형성하여 비활성병소를 모사하고자 하였다. 이에, 활성군 시편들의 절반을 비활성군(Ix, x는 탈회 기간)에 재배정하였다. 그리고 비활성군들을 각각 I3, I5, I10으로 명명하였다(상기 표 1 참조).
- [0080] 먼저, 시편들을 3 ml의 2 % 불화 나트륨 용액 (sodium fluoride, 99+%, Sigma-Aldrich, Missouri, USA; 9,050 ppm F, pH 7)에 4 분간 침적하였다. 시편들을 꺼내어 증류수와 페이퍼로 시편의 표면에 남아 있는 용액을 제거한 후, pH 6.8의 인공 타액(0.22 % mucin, 30 mM KCl, 10 mM KH₂PO₄, 13 mM NaCl 그리고 3 mM CaCl)에 24 시간 중 나머지 시간 동안 침적하였다. 이 과정을 10 일간 반복 수행하였으며, 매일 새로운 불소 용액과 인공 타액을 만들어 교체하였다.
- [0081] 모든 병소를 형성한 뒤, 정상 법랑질을 보호하기 위해 적용하였던 내산성 바니쉬를 아세톤(Extra Pure GRADE, Duksan pure chemicals, Ansan, Republic of Korea)으로 제거하였다. 이후 4 °C와 100 % 상대 습도 하에서 시편들을 냉장 보관하였다. 상기와 같은 소 치아 모델을 이용한 실험 과정을 도 1에 나타내었다.

준비에 2: 자연우식병소 활성 평가를 위한 사람 치아 시편 제작

- [0084] 본 연구는 연세대학교 연구 윤리 위원회의 승인을 받아 진행하였으며, 전신 질환이 없는 참가자들에게 구두 및 서면 동의를 받고 진행하였다. 치주, 교정, 보철 목적으로 발치되었고, 불소증과 법랑질 이형성증이 없는 120 개의 영구치를 수집하였다(도 2 참조). 본 연구에서는 국제 우식 발견 및 평가 시스템(international caries detection and assessment system; ICDAS) 코드 1과 코드 2에 해당하는 평활면에 초기 법랑질 우식 병소가 있

는 치아들을 포함하였다. 치아 주위에 존재하는 치주 조직과 치석을 dental scaler로 제거하였으며, 치태와 같은 연성 부착물은 물과 칫솔로 이용하여 제거하였다. 위 과정을 수행하였음에도 불구하고 우식 병소 위에 부착물들이 제거되지 않았던 6 개의 치아들은 제외되었다. 부착물들이 제거된 시편들을 9 mm 직경의 구멍이 있는 아크릴 몰드(20 X 12 X 7 mm)에 자가 중합형 레진(Ortho-Jet, Lang Dental Manufacturing, Illinois)을 이용하여 수직으로 매몰하였다. 실험에 사용되기 전까지 모든 시편들을 -20 °C에서 냉동 보관하였다.

[0086] **실험 방법**

[0087] 1. QLF 방법

[0088] QLF 방법은 크게, 시편을 압축공기로 탈수시키고, 탈수 전과 후에 시편을 QLF system으로 관찰하는 과정으로 이루어져 있다(Ando et al. 2018). 자세한 과정은 다음과 같다. 먼저, 증류수를 머금은 코튼 펠릿을 시편의 표면에 60초 간 올려 두어 시편을 충분히 수화시켰다. 이후, 수화된 시편을 3-way syringe의 압축된 공기로 10초 간 탈수하였다(도 3 참조). 수화 및 탈수 후, 모든 시편들의 백색 사진과 형광 사진을 QLF-D (Quantitative Light-induced Fluorescence-Digital 2+ Billuminator, Inspektor Research System BV, Amsterdam, The Netherlands)와 proprietary imaging software (C3 1.26, Inspektor Research System BV)로 촬영하였다. 백색 사진들과 형광 사진들의 촬영 조건들을 하기 표 2에 제시하였다.

표 2

	백색이미지	형광이미지
셔터스피드(shutter speed)	1/90s	1/30s
구경값(aperture value)	13.0	10.0
ISO 스피드(ISO speed)	1600	1600
픽셀 사이즈(pixel size)	2592 × 1728	2592 × 1728

[0090] 2. DEQLF 방법

[0091] DEQLF 방법은 건조된 시편에 형광 염색제를 침투시키고, 침투 전과 후에 시편을 QLF로 관찰하는 과정으로 이루어져 있다. 자세한 과정은 다음과 같다. 형광 염색제는 3차 증류수와 에탄올(DUKSAN, Seoul, Republic of Korea)이 1대 1의 비율로 혼합된 용매 100 ml에 0.0376 mg fluorescein sodium (Sigma-Aldrich, Missouri, USA)를 첨가하여 제작되었다. 코튼 펠릿에 형광 염색제를 적셔 시편의 표면에 10초 동안 올려두었다(도 4 참조). 이어서, 시편 표면에 존재하는 잔여 형광 염색제를 증류수로 세척하였다. DEQLF 방법을 수행하기 전과 후에 시편들의 백색 이미지와 형광 이미지 또한 QLF 방법과 동일한 과정으로 촬영하였다(표 2 참조).

[0092] 3. 사진 분석 방법

[0093] Image-Pro PLUS 6.0 (Media Cybernetics, Maryland, USA)를 이용하여 사진 분석을 수행하였다.

[0094] 1) 인공우식 병소의 사진 분석

[0095] 평가 방법들을 수행하기 전 시편들의 형광 사진에서 정상 범랑질과 인공우식병소의 관심 영역(각각 AOIs와 AOIc)들을 설정하였다(도 5의 (A) 참조).

[0096] 정상 범랑질과 인공우식병소의 형광 강도를 밝기(brightness)로 측정하기 위해 모든 형광 이미지들을 8-비트 회색스케일 이미지로 변환하였다(도 5의 (B) 참조). 8-비트 회색스케일 이미지에서 정상 범랑질의 평균 회색 강도(mean gray level of sound enamel, MGLS)과 인공우식병소의 평균 회색 강도(mean gray level of caries lesion, MGLC)를 측정하였다. 정상 범랑질의 자가형광과 비교하여 인공우식병소의 자가형광이 얼마나 밝은지 또는 어두운 지 평가하기 위해, MGLs와 MGLc를 이용하여 정상 범랑질에 대한 인공우식병소의 평균 회색 강도의 변화율(ΔG , %)를 산출하였다(도 5의 (C) 참조).

[0097] 여기서, ΔG 가 양수이면 정상 범랑질보다 우식병소의 자가형광이 더 밝다는 것을 의미하며, ΔG 가 음수이면 정상 범랑질보다 우식병소의 자가형광이 더 어둡다는 것을 의미한다.

[0098] 이어서, ΔG 를 이용하여 평가법들(QLF와 DEQLF)에 의한 병소의 형광 변화($\Delta \Delta G$, %)를 산출하였다(도 5의 (C) 참조). $\Delta \Delta G$ 는 평가 전과 후 ΔG 의 차이(ΔG after assessment - ΔG before assessment)이다.

- [0099] 2) 자연우식의 사진 분석
- [0100] 평가법 수행 전 시편들의 형광 사진에서 어두운 형광을 발하는 영역을 AOI of caries lesion(AOIC)로, 어두운 형광과 밝은 형광의 경계선에서 바깥으로 2mm 더 넓은 영역을 AOI of sound enamel(AOIs)로 설정하였다(도 6의 (A) 참조). $\Delta \Delta G$ 를 산출하는 과정은 인공 우식에서의 방식과 동일하게 수행되었다(도 6의 (B)와 (C) 참조).
- [0101] 4. 통계학적 방법
- [0102] SPSS 25.0 (IBM, Illinois, USA)과 MedCalc® (MedCalc Software Ltd, Ostend, Belgium)를 이용하여 통계학적 분석들을 수행하였다. 이하 실험에서는 각 변수들의 차이를 독립표본 t-검정(independent t-test)을 이용하여 $\alpha=0.05$ 의 유의 수준 하에서 검정하였다.
- [0103] 활성_{DEQLF}와 비활성_{DEQLF}를 구분하거나 활성_{Nyvad}와 비활성_{Nyvad}를 구분함에 $\Delta \Delta G$ 의 타당도를 확인하기 위해 Receiver Operator Characteristics (ROC) curve를 산출하였고, 이를 통해 ROC 커브 아래 영역(Area under the ROC curve; AUROC), 민감도, 특이도를 평가하였다. 연속변수인 $\Delta \Delta G$ 의 적정 컷-오프 값(optimal cut-off)으로 결정 함에 있어, 민감도와 특이도의 합이 가장 높았을 때의 값을 사용하였다.

[0105] **실시예 1: 인공우식병소의 활성 평가**

- [0106] 1.1 조직학적 분석
- [0107] 인공우식병소의 조직학적 특징들(병소 깊이와 재광화된 표층의 유무)을 평가하기 위해 조직학적 분석을 수행하였다. 시편은 미세절단기(TechCut 4™, Allied High Tech Products, California, USA)를 이용하여 300 μm 의 두께로 잘라내었다. 절편의 두께가 100 μm 가 될 때까지, 절편의 절단면 부위를 800 grit의 연마지(SiC sand paper, R&B Inc., Daejeon, Republic of Korea)로 연마하였다. 절편의 절단면은 100 배와 400 배로 확대하여 편광현미경(CX31-P, Olympus, Tokyo, Japan)을 이용하여 촬영하였다.
- [0108] 병소깊이(Lesion depth, Ld)를 측정하기 위해 Image-pro plus (ver. 6.0, Media Cybernetics Inc., Maryland, USA)를 이용하였다. 병소의 3 곳에서 병소 깊이를 측정하였으며, 측정된 깊이의 평균값을 병소 깊이의 대표값으로 사용하였다.
- [0109] 1.2 활성 및 비활성 간 병소 깊이 비교
- [0110] 3 일간 탈회된 병소들에서 활성군과 비활성군 간 병소깊이(평균±표준편차)를 비교한 결과, 활성군(A3, 44.5±8.9)과 비활성군(I3, 45.9±8.7) 간에 통계적으로 유의한 차이가 없었다. 반면, 5 일간 탈회된 병소들에서 활성군(A5, 59.0±11.3)은 비활성군(I5, 36.7±6.8)에 비해 1.6배 더 깊은 병소였으며, 10 일간 탈회된 병소들에서 활성군(A10, 122.4±12.8) 또한 비활성군(I10, 86.9±25.7)에 비해 1.4 배 더 깊은 병소였다($P < 0.001$).
- [0111] 1.3 활성군과 비활성군 간 병소의 형광 비교
- [0112] 1) QLF 방법을 이용한 활성, 비활성 병소 형광 평가
- [0113] 인공우식병소에 QLF 방법을 수행하고 활성군과 비활성군 간 ΔG (정상 범랑질에 대한 병소의 형광증가율)를 비교한 결과, 활성군은 비활성군보다 통계적으로 유의하게 낮은 ΔG 를 보였다($P < 0.001$, 표 3 참조). 3 일, 5 일, 10 일 동안 탈회된 병소들에서 활성군은 비활성군보다 각각 2.4 배, 3.0 배, 2.1 배 낮은 ΔG 를 보였다($P < 0.001$, 표 3 참조).

표 3

[0114]

탈회된 기간	활성	비활성	P-value
3	-24.1(6.6)	-9.9(5.0)	<0.001
5	-27.4(5.3)	-9.0(6.8)	<0.001
10	-38.9(7.3)	-18.7(8.7)	<0.001

평균(표준편차).
 ΔG 는 범랑질의 형광증가율에 대한 우식병변의 형광증가율을 의미함(단위: %).
P-값은 독립 t-검정 ($\alpha=0.05$)을 사용하여 평가되었음.

- [0115] 상기 표 3은 표본의 ΔG 비교는 활성 그룹과 비활성화 그룹 간의 QLF(Quantitative Light-induced

Fluorescence) 방법을 수행한 결과이다.

[0116] 마찬가지로, 인공우식 병소에 QLF 방법을 수행하고 활성군과 비활성군 간 $\Delta \Delta G$ (QLF 방법에 의한 병소의 형광변화)를 비교한 결과, 3 일, 5 일, 10 일 동안 탈회된 병소들에서 활성군은 비활성군보다 각각 2.6 배, 4.3 배, 2.2 배 더 낮은 $\Delta \Delta G$ 를 보였다($P < 0.001$, 표 4 참조). 그리고, QLF 방법을 수행하기 전과 후에 촬영된 시편들의 형광 이미지들에서 병소의 형광 변화를 육안으로 평가한 결과를 도 7에 나타내었다. 도 7에서 Ax는 x일 동안 병변을 탈회한 우식 병변을 의미하며, Ix는 x일 동안 탈회 후 10일 동안 재광화된 우식 병변을 의미하며, RSL은 우식 병변의 재광화 표면층을 의미한다. 결과를 살펴 보면, 모든 군들에서 QLF 수행 후 병소의 형광은 QLF 수행 전에 비해 더 어두워진 것을 관찰할 수 있었고, 그 중 활성군에서 병소의 형광은 비활성군에 비해 더 어두워진 것을 확인할 수 있었다.

표 4

[0117]

탈회된 기간	활성	불활성	P-value
3	-14.2(3.4)	-5.5(2.5)	<0.001
5	-21.3(3.2)	-5.0(3.0)	<0.001
10	-24.4(4.1)	-11.0(3.7)	<0.001

평균(표준편차).
 $\Delta \Delta G$ 는 QLF법 수행 전과 후의 시편의 ΔG 차이를 의미함(단위: %).
P-값은 독립 t-검정($\alpha=0.05$)을 사용하여 평가되었음.

[0118] 상기 표 4는 표본의 $\Delta \Delta G$ 의 비교는 활성 그룹과 비활성화 그룹 간의 QLF(Quantitative Light-induced Fluorescence) 방법을 수행하였다.

[0119] 2) DEQLF 방법을 이용한 활성, 비활성 병소 형광 평가

[0120] 인공우식병소에 DEQLF 방법을 수행하고 활성군과 비활성군 간 ΔG (정상 범랑질에 대한 병소의 형광증가율)를 비교한 결과, 활성군은 비활성군보다 통계적으로 유의하게 높은 ΔG 를 보였다($P < 0.001$, 표 5 참조). 특히, 활성군에서 ΔG 는 24.0 내지 46.4 %으로 모두 양의 값을 보였던 반면, 비활성군에서 ΔG 는 -12.6 내지 -9.7 %으로 모두 음의 값을 보였다.

표 5

[0121]

탈회된 기간	활성	불활성	P-value
3	24.0(12.6)	-9.7(4.8)	<0.001
5	38.9(11.3)	-10.2(5.5)	<0.001
10	46.4(16.2)	-12.6(9.8)	<0.001

평균(표준편차).
 ΔG 값은 범랑질의 형광증가율에 대한 우식병변의 형광증가율(단위: %)을 의미한다.
P-값은 독립 t-검정($\alpha=0.05$)을 사용하여 평가되었습니다.

[0122] 마찬가지로, 인공우식병소에 DEQLF 방법을 수행하고 활성군과 비활성군 간 $\Delta \Delta G$ (DEQLF 방법에 의한 병소의 형광변화)를 비교한 결과, 3 일, 5 일, 10 일 동안 탈회된 병소들에서 활성군은 비활성군보다 각각 17.1 배, 22.8 배, 9.9 배 높은 $\Delta \Delta G$ 를 보였다(표 6 참조).

표 6

[0123]

탈회된 기간	활성	불활성	P-value
3	44.5(14.5)	2.6(2.0)	<0.001
5	66.1(13.6)	2.9(2.4)	<0.001
10	89.0(16.4)	9.1(8.5)	<0.001

평균(표준편차).
 $\Delta \Delta G$ 는 DEQLF법 수행 전과 후의 시편의 ΔG 차이를 의미함(단위: %).
P-값은 독립 t-검정($\alpha=0.05$)을 사용하여 평가되었음.

[0124] 그리고, DEQLF 방법을 수행하기 전과 후에 촬영된 시편들의 형광 이미지들에서 병소의 형광변화를 육안으로 평

가한 결과를 도 8에 나타내었다. 도 8에서 Ax는 x일 동안 병변을 탈회한 우식 병변을 의미하며, Ix는 x일 동안 탈회 후 10일 동안 재광화된 우식 병변을 의미하며, RSL은 우식 병변의 재광화 표면층을 의미한다. 결과를 살펴 보면, DEQLF 수행 후 A3, A5, A10, I10에서 병소의 형광은 DEQLF 수행 전에 비해 더 밝아진 것을 확인하였고, 이 중 A3, A5, A10에서 병소의 형광은 전체적으로 밝아진 반면, I10에서 병소의 형광은 일부 영역에서만 밝아진 것을 확인할 수 있었다. 이와 달리, I3과 I5의 병소에서는 DEQLF 수행에 의한 형광의 변화를 볼 수 없었다.

[0125] 1.4 QLF 방법과 DEQLF 방법 간 병소의 형광 변화 비교

[0126] QLF 방법에 의한 병소의 형광변화량($|\Delta \Delta G|$)와 DEQLF 방법에 의한 병소의 형광변화량($|\Delta \Delta G|$)를 비교한 결과, A3, A5 그리고 A10에서 DEQLF 방법에 의한 $|\Delta \Delta G|$ 는 QLF 방법에 의한 $|\Delta \Delta G|$ 와 비교하여 각각 3.1 배, 3.1 배 그리고 3.7 배 높게 나타났다($P < 0.001$, 도 9 참조). 또한, I3과 I5에서 DEQLF 방법에 의한 $|\Delta \Delta G|$ 는 QLF 방법에 의한 $|\Delta \Delta G|$ 보다 각각 2.2 배와 1.7 배 낮은($P < 0.05$) 반면, I10에서 DEQLF 방법에 의한 $|\Delta \Delta G|$ 와 QLF 방법에 의한 $|\Delta \Delta G|$ 간 통계적으로 유의한 차이는 볼 수 없었다.

[0127] 1.5 결론

[0128] 동일한 병소를 대상으로 QLF 방법과 DEQLF 방법을 수행하고, 두 방법들에 의한 병소의 형광변화량($|\Delta \Delta G|$)를 비교한 결과, Ax군에서 DEQLF 방법은 QLF 방법보다 3.1 내지 3.7 배 더 큰 $|\Delta \Delta G|$ 를 보였던 반면($P < 0.001$), I10군을 제외한 Ix군에서 DEQLF 방법은 QLF 방법보다 1.7 내지 2.2 배 더 적은 $|\Delta \Delta G|$ 를 보였다($P < 0.05$, 도 9 참조). QLF 방법은 병소의 다공성 구조 중에서 일부인 표면의 다공성 구조에 존재하는 수분만을 제거하며, 이로 인한 굴절률의 차이만으로 형광의 변화를 야기하는 반면, DEQLF 방법은 형광 염색제를 비어 있는 병소 표층의 다공성 구조에 침투시키기 때문에, 어두웠던 병소의 형광을 형광 염색제의 강한 밝은 형광으로 반전시켜 보여줄 수 있다. 따라서, 수분의 증발을 이용하는 QLF 방법보다 염색제를 침투시키는 DEQLF 방법이 초기우식병소의 다공성 구조를 가시화하고 정량화함에 있어 더 우수하였고, 이를 통해 임상가에게 표층 다공성 구조에 대한 정보를 더욱 직관적이며 민감하게 전달할 수 있을 것으로 사료된다.

[0129] 또한 DEQLF 방법은 초기 우식 내로 침투한 형광 염색제의 형광을 통해 병소의 재광화 정도를 평가하는 것이 가능하다. 본 연구에서 I10군은 I3군, I5군과 달리 병소의 일부 영역에서 형광 염색제에 의한 밝은 형광을 발하였다(도 8 참조). 형광 이미지와 조직학적 이미지를 대치하여 병소의 형광에 따른 조직학적 특징을 관찰한 결과, I3군과 I5군의 병소는 완전히 재광화된 병소의 표층을 가진 반면, I10군의 병소는 일부 영역에서 불완전히 재광화된 표층을 가졌다(노란 화살표, 도 8). 이 결과를 통해 완전히 재광화된 표층 구조의 경우 염색제가 침투하지 못한 반면, 부분적으로 일부분만 재광화된 병소의 경우 염색제가 틈사이로 침투되었기 때문에 해당 부분에서 염색제의 형광이 관찰되는 것으로 예측된다. 이처럼 표면 다공성의 정도에 따라 재광화 정도에는 차이가 나타날 수 있으며 이를 DEQLF 방법으로 염색제의 침투 여부를 평가함으로써 확인이 가능하다. 선행연구에 따르면, 여러 가지 탈회 기간을 통해 형성된 다양한 표층 다공성의 탈회 병소들에 동일한 불소 처치를 수행하면, 표층 다공성에 따른 불소의 반응 차이(fluoride response differential)가 발생한다. 한 선행연구는 다양한 표층 다공성의 초기우식에 본 연구에서 사용한 것과 동일한 불소(2% NaF solution, 9000 ppm)를 처치하여 이로 인해 병소들이 얼마나 재광화 되었는지를 QLF system으로 평가하였다. 그 결과, 얇은 병소(40 내지 60 um의 병소 깊이, 본 연구의 I3와 I5에 해당하는 병소)는 완전히 재광화된 표층과 함께 48.0 내지 62.9%의 재광화율을 보였던 반면, 상대적으로 깊은 병소(약 120 um의 병소 깊이, 본 연구의 I10에 해당하는 병소)는 덜 재광화된 표층과 함께 27.4%의 재광화율을 보임을 확인하였다. 따라서, DEQLF 방법을 이용한다면 병소의 표층 다공성 뿐만 아니라 재광화 여부 및 처치 후 효과를 직관적, 정량적으로 예측하고 평가할 수 있을 것이다.

[0131] **실시예 2: 자연우식병소의 활성 평가**

[0132] 2.1 시진-촉진법을 이용한 우식병소 활성평가

[0133] 동일한 장소에서 10년 이상 임상 경력을 가진 두 명의 치과의사들이 모든 치아에 존재하는 초기 우식의 병소 활성을 치과용 탐침으로 평가하였다. 시진-촉진법으로 Nyvad criteria를 이용하였다. 이 기준에 의하면 가죽과 같은 질감, 백색/황색의 색상 그리고 광택이 소실된 병소를 활성병소로 정의하며, 이와 반대로 반대로 매끄러운 질감, 백색/갈색/흑색의 색상 그리고 광택이 존재하는 병소를 비활성병소로 정의하였다. 활성병소와 비활성병소의 특성이 혼재하는 혼합병소의 경우, 활성병소로 간주하였다. 두 명의 검사자 간 평가 결과들이 일치하지 않은 경우, 두 검사자가 합의한 결과를 사용하였다.

[0134] 2.2 DEQLF 방법을 활용한 새로운 우식병소 활성평가

[0135] DEQLF 방법을 활용한 우식병소활성평가는 두 명의 훈련된 검사자들에 의해 수행되었다. 우식병소 내에서 형광 염색제의 노랑-초록색 형광이 관찰되는 병소를 활성DEQLF으로, 형광이 관찰되지 않는 병소를 비활성DEQLF로 정의하였다(도 10 참조). 두 명의 검사자에 의한 평가 결과들이 일치하지 않은 경우, 두 검사자가 합의한 결과를 사용하였다.

[0136] 2.3 기존 방법(Nyvad criteria)과 DEQLF 방법을 이용한 활성 분포 비교

[0137] 기존의 우식 병변 활성도 평가(Nyvad 시스템)로 평가한 우식 병변의 활성 상태에 따른 활성 DEQLF 및 비활성 DEQLF 병변의 분포는 아래의 표 7과 같다.

[0138] 기존 방법(Nyvad criteria)을 이용하여 구분된 활성Nyvad 병소들(n=33, 100.0 %)에서 활성DEQLF 병소들(n=15, 45.5 %)은 비활성DEQLF 병소(n=18, 54.5 %)에 비해 더 적은 분포를 보였다. 이와 반대로, 비활성Nyvad 병소들(n=37, 100.0 %)에서는 비활성DEQLF 병소(n=26, 70.3 %)가 활성DEQLF 병소(n=11, 29.7 %)에 비해 더 많은 분포를 보였다. 두 방법 간 percent agreement는 58.6 %였다.

표 7

N (%)	활성 DEQLF	비활성 DEQLF	합계(total)
활성 Nyvad	15(57.7)	18(40.1)	33(47.1)
비활성 Nyvad	11(42.3)	26(59.9)	37(52.9)
합계(total)	26(100.0)	44(100.0)	70(100.0)

활성 Nyvad 및 비활성 Nyvad는 기존의 시각 촉각 기반 병변 활성 평가(Nyvad 시스템)와 구별되는 우식 병변의 활성 상태를 의미함.
 활성 DEQLF 및 비활성 DEQLF는 DEQLF(Dye-Enhanced Quantitative Light-induced Fluorescence) 방법으로 구별되는 우식 병변의 활성 상태를 의미함.

[0140] 2.4 QLF 방법과 DEQLF 방법 간 병소의 형광 변화 비교

[0141] 1) 기존 방법(Nyvad criteria)으로 구분된 병소 비교

[0142] 활성 Nyvad 병변과 비활성 Nyvad 병변 사이에 QLF 또는 DEQLF를 수행하여 우식 병변의 자가형광 변화($\Delta \Delta G$)를 비교하여 도 11에 나타내었다. 기존 방법(Nyvad criteria)으로 활성 상태를 구분한 자연우식에서 활성Nyvad과 비활성Nyvad 간 $\Delta \Delta G$ (평균±표준편차)를 비교한 결과, QLF 방법에 의한 $\Delta \Delta G$ 는 활성Nyvad(-1.1±1.7)과 비활성Nyvad(-1.3±1.7) 간에 통계적으로 유의한 차이가 없었던 반면, DEQLF 방법에 의한 $\Delta \Delta G$ 는 활성Nyvad(3.8±5.6)이 비활성Nyvad(1.0±2.5)에 비해 3.8 배 더 높은 값을 보였다(P < 0.05, 도 11 참조). 본 명세서에서 *는 P < 0.05, **는 P < 0.01, ***는 P < 0.001를 의미한다.

[0143] 2) DEQLF 방법으로 구분된 병소 비교

[0144] 활성 DEQLF 병변과 비활성 DEQLF 병변 간의 QLF 방법 또는 DEQLF 방법을 수행하여 우식 병변의 자가형광($\Delta \Delta G$) 변화 비교하여 도 12에 나타내었다. DEQLF 방법으로 활성 상태를 구분한 자연우식에서 활성DEQLF과 비활성DEQLF 간 $\Delta \Delta G$ (평균±표준편차)를 비교한 결과, QLF 방법에 의한 $\Delta \Delta G$ 는 활성DEQLF(-1.1±1.7)과 비활성DEQLF(-1.3±1.8) 간에 통계적으로 유의한 차이가 없었던 반면, DEQLF 방법에 의한 $\Delta \Delta G$ 는 활성DEQLF(4.1±6.3)이 비활성DEQLF(1.2±2.5)에 비해 3.8 배 더 높은 값을 보이는 것을 확인할 수 있었다(P < 0.05, 도 12 참조).

[0145] 3) 병소의 활성화도 평가 방법

[0146] 측정된 $\Delta \Delta G$ 값의 범위가 1.25 < $\Delta \Delta G$ ≤ 1.65의 범위에 속하거나 $\Delta \Delta G$ > 1.65의 범위에 속하는 경우 병소의 활성화도가 높아 초기 우식이 활성 상태로 병소가 더 악화될 것으로 예측할 수 있고, 측정된 $\Delta \Delta G$ 값의 범위가 $\Delta \Delta G$ ≤ 1.25의 범위에 속하는 경우 병소의 활성화도가 낮아 초기 우식이 비활성 상태로 병소가 더 이상 진행하지 않을 것으로 예측할 수 있다. 상기와 같은 결과는 병소의 활성화도 평가 시 적정 컷오프 기준값인 1.47으로부터 10 % 내지 20 % 내외의 오차 범위에 해당하는 임계값을 포함하는 것으로 해석될 수 있다.

[0147] 4) 타당도 평가 검증

[0148] 우식 활성을 종적으로 평가함에 황금 기준(gold standard)이 없는 실정에서, 통상적으로 우식활성 평가법으로 Nyvad system가 임상에서 사용되는 점을 고려하여, Nyvad system으로 우식 활성이 구분된 치아들을 대상으로 새

로운 평가 방법($\Delta \Delta G$)의 타당도를 평가하였다.

[0149] 활성Nyvad과 비활성Nyvad를 구분함에 있어 기존 방법(Nyvad criteria)으로 구분된 병소 평가 시 DEQLF 방법에 의한 $\Delta \Delta G$ 의 타당도를 평가한 결과, 0.72의 AUROC로 moderate 타당도를 보였다(도 13 참조). 또한, $\Delta \Delta G$ 는 0.67의 민감도와 0.76의 특이도를 보였다. 활성DEQLF와 비활성DEQLF를 구분함에 있어 DEQLF 방법으로 구분된 병소 평가 시 DEQLF 방법에 의한 $\Delta \Delta G$ 의 타당도를 평가한 결과, 0.68의 AUROC로 moderate 타당도를 보였다(도 14 참조). 또한, $\Delta \Delta G$ 는 0.58의 민감도와 0.80의 특이도를 보였다. 이에, 본 발명은 상기 Nyvad system의 민감도와 특이도를 고려하여, 이로부터 최종 $\Delta \Delta G$ 의 컷 오프값을 도출할 수 있었다.

[0151] **결과 해석**

[0152] 1) 본 발명의 실시예 1에서는 인공우식병소에 DEQLF 방법을 수행하여 활성 상태에 따라 상반되는 병소의 형광을 관찰할 수 있었다. 구체적으로, Ax군과 Ix군 간에 ΔG (정상 범랑질에 대한 병소의 형광증가율)를 비교한 결과, Ax군은 positive ΔG (24.0 내지 46.4)를 보여주어 정상 범랑질보다 밝은 병소의 형광을 보았던 것과 달리 Ix군은 negative ΔG (-9.7 내지 -12.6)를 보여주어 정상 범랑질보다 병소의 형광은 어두운 것을 확인할 수 있었다. 이는 형광 염색제가 탈회로 인한 열린(다공성의) 표층을 통해 병소 내로 침투할 수 있었던 반면, 재광화로 인한 닫힌(덜 다공성의) 표면을 통해서는 병소 내로 침투할 수 없었음을 의미하는 것이다(도 15 참조). 조직학적 평가결과에서도 Ix군의 병소가 Ax군 병소와 달리 정상 범랑질의 무기질 함량과 유사한 재광화된 표층 구조를 가졌음을 확인하였으며, 이러한 차이가 염색제 침투 여부에 영향을 준 것으로 볼 수 있다(도 8의 화살표 RSL 참조). 또한 인공적으로 형성한 초기 우식병소에 QLF 방법을 수행하면 일반적으로 탈회 병소와 재광화 병소 모두 정상 범랑질에 비해 어두운 형광(음의 ΔG)을 발하기 때문에, 형광 염색제가 병소 표층의 다공성 구조를 통해 내부로 침투해야만 병소에서 정량 범랑질에 비해 밝은 형광(양의 ΔG)을 관찰할 수 있다. 이처럼, DEQLF는 병소의 구조적 특징에 따라 상반되는 형광 염색제의 침투 양상을 보여주는 방법임을 확인함으로써 이 방법을 이용하여 병소의 활성 상태를 객관적이며 간편하게 평가할 수 있을 것으로 사료된다. 반면, 인공우식병소를 QLF 방법으로 평가하였을 때, 활성 병소와 비활성 병소 모두 정상 범랑질보다 어두운 형광을 보였기에 병소의 활성 상태를 구분함에 어려움이 있었다. 본 연구에서 Ax군과 Ix군 간에 ΔG (정상 범랑질에 대한 병소의 형광증가율)를 비교한 결과, Ax군(-38.9 내지 -24.1)과 Ix군(-18.7 내지 -9.0)은 모두 음의 ΔG 를 보여 정상범랑질에 비해 어두운 형광을 발하는 병소를 보여주었다. 그리고, 형광 이미지에서 A3군과 I10군을 비교한 결과, 상대적으로 더 다공성의 표층이지만 얇은 병소 깊이를 가진 A3군의 병소와 덜 다공성의 표층이지만 깊은 병소 깊이를 가진 I10군의 병소를 정량적으로 그리고 육안으로 구분할 수 없었다(도 7 참조). 이는 QLF system의 근본적인 원리와 관련이 있는데, QLF 방법에 의해 병소가 탈수되는 과정에서 병소의 형광은 표층 다공성의 증가뿐만 아니라 병소 깊이가 증가할 때에도 어두워지기 때문이다. 따라서, QLF 방법의 형광 변화만으로는 표층 다공성과 깊이가 다양한 병소들에서 표층 다공성 차이로 인한 우식 활성 상태를 구분함에 적합하지 않은 것으로 사료된다.

[0153] DEQLF 방법은 초기우식 내로 침투한 형광 염색제의 형광을 통해 병소의 재광화 정도를 평가하는 것이 가능하다. 본 연구에서 I10군은 I3군, I5군과 달리 병소의 일부 영역에서 형광 염색제에 의한 밝은 형광을 발하였다(도 8 참조). 형광 이미지와 조직학적 이미지를 대치하여 병소의 형광에 따른 조직학적 특징을 관찰한 결과, I3군과 I5군의 병소는 완전히 재광화된 병소의 표층을 가진 반면, I10군의 병소는 일부 영역에서 불완전히 재광화된 표층을 가졌다(노란 화살표, 도 8 참조). 이 결과를 통해 완전히 재광화된 표층 구조의 경우 염색제가 침투하지 못한 반면, 부분적으로 일부분만 재광화된 병소의 경우 염색제가 틈 사이로 침투되었기 때문에 해당 부분에서 염색제의 형광이 관찰되는 것으로 예측된다. 이처럼 표면 다공성의 정도에 따라 재광화 정도에는 차이가 나타날 수 있으며 이를 DEQLF 방법으로 염색제의 침투 여부를 평가함으로써 확인이 가능하다. 이를 통하여 DEQLF 방법은 QLF 방법과 비교하여 동일한 병소에서의 표층 다공성을 더 큰 형광 변화로 나타내어 병소의 다공성 구조를 더욱 극명하게 보여줄 수 있음을 확인하였다.

[0154] 2) 본 발명의 실시예 2에서는 자연우식병소에 DEQLF 방법을 수행한 뒤, 병소 내에서 형광 염색제의 형광이 관찰되면 '활성DEQLF'으로, 형광이 관찰되지 않으면 '비활성 DEQLF'로 분류하는 새로운 우식 병소 활성 평가 기준을 확립하였다. 이 방법으로 구분된 병소들(활성DEQLF와 비활성DEQLF)과 기존 우식병소활성평가법인 Nyvad system으로 구분된 병소들(활성Nyvad와 비활성Nyvad) 간의 분포를 확인한 결과, 58.6 %의 일치도로 다소 낮은 결과를 볼 수 있었다. 이는 자연 우식의 표면 특성을 평가함에 있어 두 방법 간 차이에 의한 것으로 사료된다. 예를 들어, 병소 전체 면적 중 일부 작은 크기의 영역에서 표층 다공성에 차이가 있을 때 기존방법은 검사자의 시각, 촉각과 같은 감각을 이용하기 때문에 이를 놓치기 쉽다. 그러나 DEQLF를 이용한 새로운 우식활성평가법은 염색

제 침투 여부를 형광 발현을 통해 손쉽게 탐지하는 것이 가능하다. 실제로 본 연구에서 자연병소의 경우 활성 DEQLF로 분류된 병소들에서 형광 염색제에 의한 형광이 병소의 전체적인 영역이 아닌 일부 영역에서 관찰되는 경우가 대다수였으며, 이는 활성DEQLF군 병소들에서 비활성Nyvad군 병소가 42.3 %의 분포를 보인 것으로도 뒷받침할 수 있다. 따라서, DEQLF 방법은 작은 크기를 가진 탈회 영역이라도 형광 염색제의 형광을 통해 가시화할 수 있기에 기존 방법으로 놓치기 쉬운 자연 우식병소의 표면 특성 평가에서의 어려움을 극복할 수 있는 방법으로 활용이 가능함을 다시금 확인할 수 있었다.

[0156] **결론**

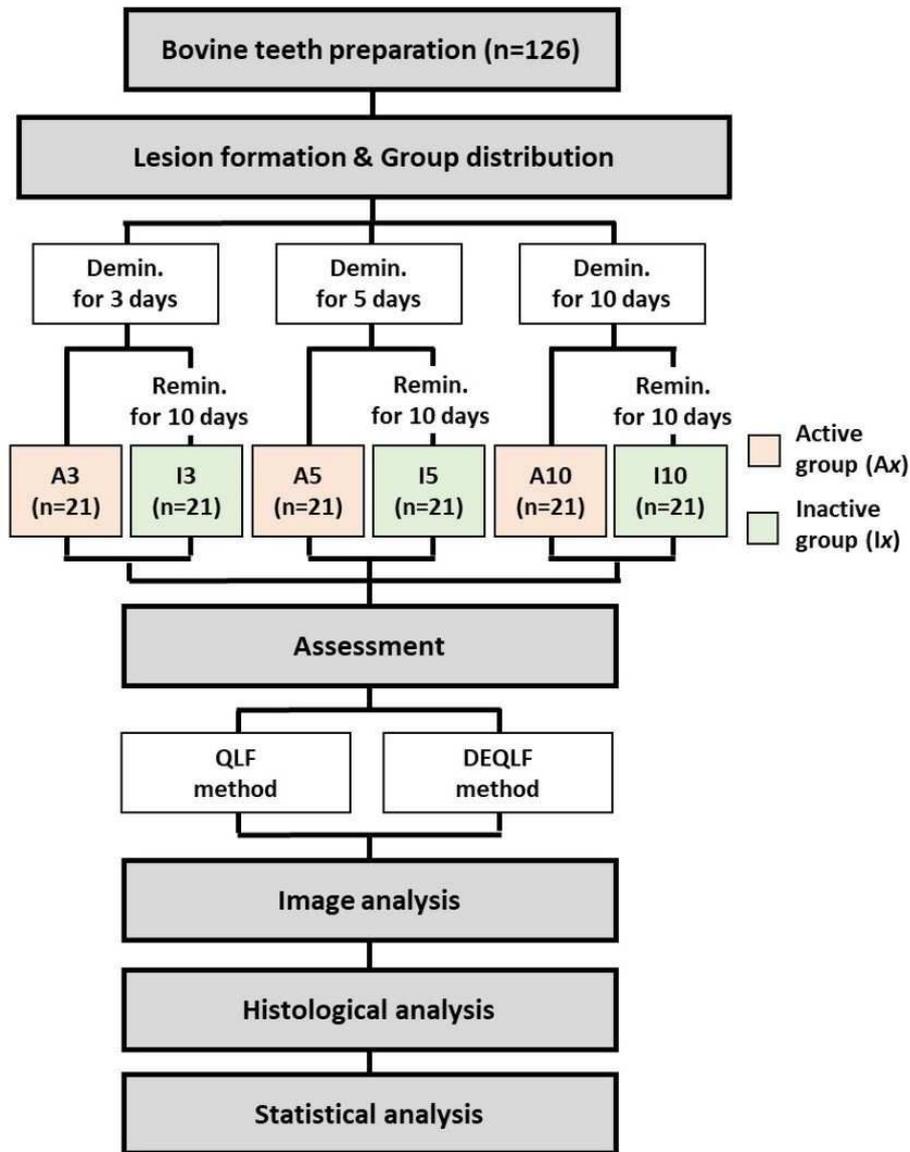
[0157] 상기 결과를 종합하면, 인공 및 자연우식에 DEQLF 방법을 수행하였을 때 비활성 병소와 비교하여 활성 병소에서 더 높은 형광 지표가 산출되었으며, DEQLF 방법을 이용하여 병소 활성을 구분하는데 있어 높은 수준의 타당도를 확인함으로써, 초기우식의 병소활성 평가법으로써 DEQLF의 활용 가능성을 확인할 수 있었다. 또한, QLF 방법과 비교하여 DEQLF 방법은 활성과 비활성 간 병소 표층의 미세한 다공성 차이를 더 극명하게 가시화하고 정량적 차이로 보여줄 수 있음을 확인하였다.

[0158] 따라서, 본 발명에 의한 DEQLF 방법을 이용할 경우 객관적이고 직관적으로 병소의 활성 상태를 평가할 수 있으며, 이를 근거자료로 활용함으로써 초기 우식병소에 대한 영상 자료와 정량화된 결과값을 이용하여 병소의 진행을 모니터링함에 사용할 수 있을 것이다. 더 나아가 DEQLF 방법에 의해 정량화된 변수는 초기 우식병소의 활성 상태를 평가함으로써 이에 적합한 예방적 처치를 제공하기 위한 객관적인 지표로 사용될 수 있어 조기에 우식병소 활성에 대한 정확한 진단이 가능하므로 우식 환자로 하여금 적절한 치료를 받을 수 있도록 정확한 기초 정보를 제공할 수 있을 것이다.

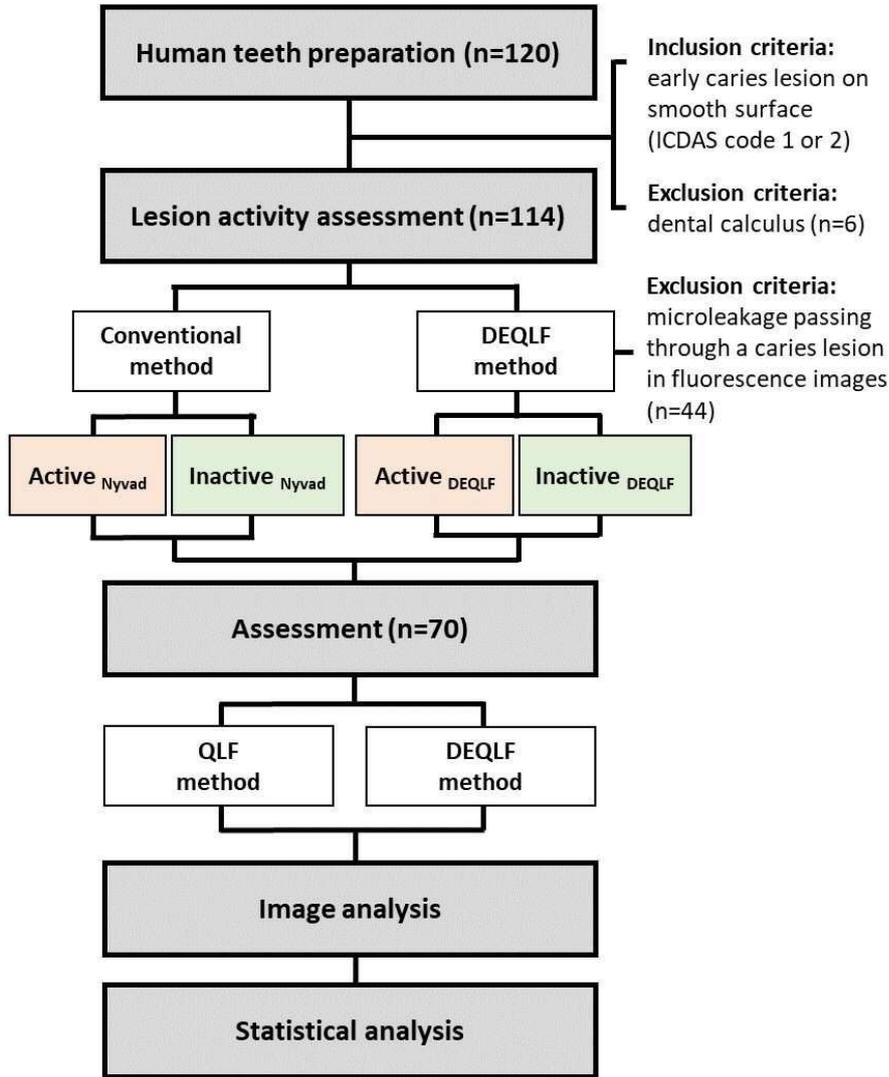
[0160] 이상으로 본 발명의 특정한 부분을 상세히 기술하였는 바, 당업계의 통상의 지식을 가진 자에게 있어서 이러한 구체적인 기술은 단지 바람직한 구현 예일 뿐이며, 이에 본 발명의 범위가 제한되는 것이 아닌 점은 명백하다. 따라서, 본 발명의 실질적인 범위는 첨부된 청구항과 그의 등가물에 의하여 정의된다고 할 것이다.

도면

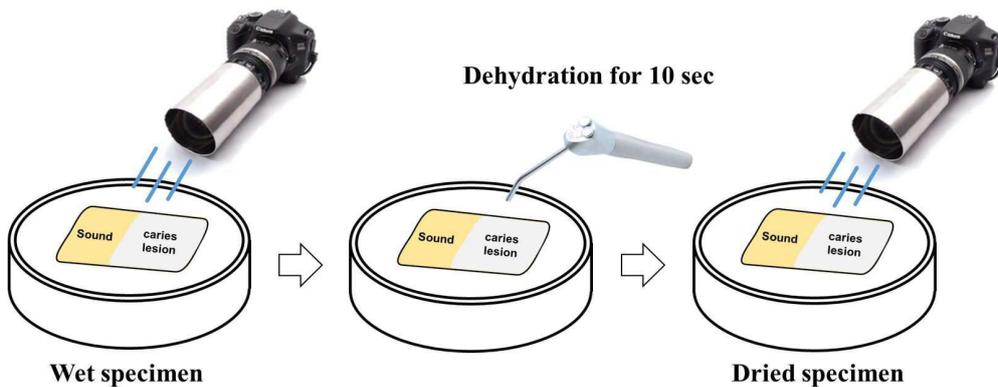
도면1



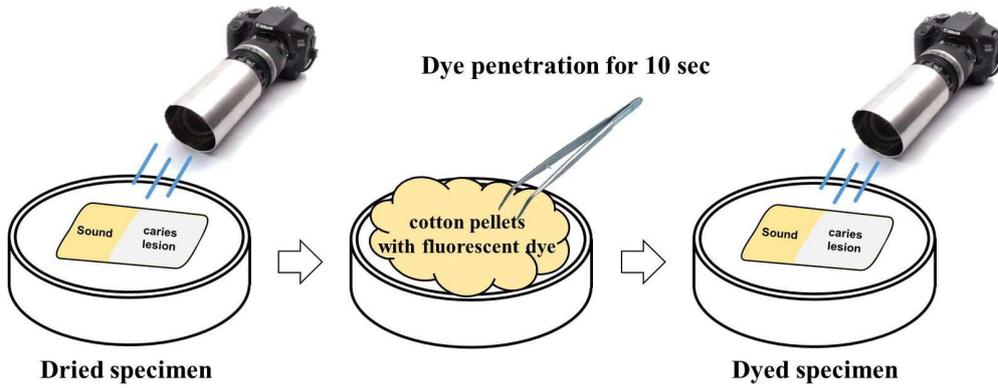
도면2



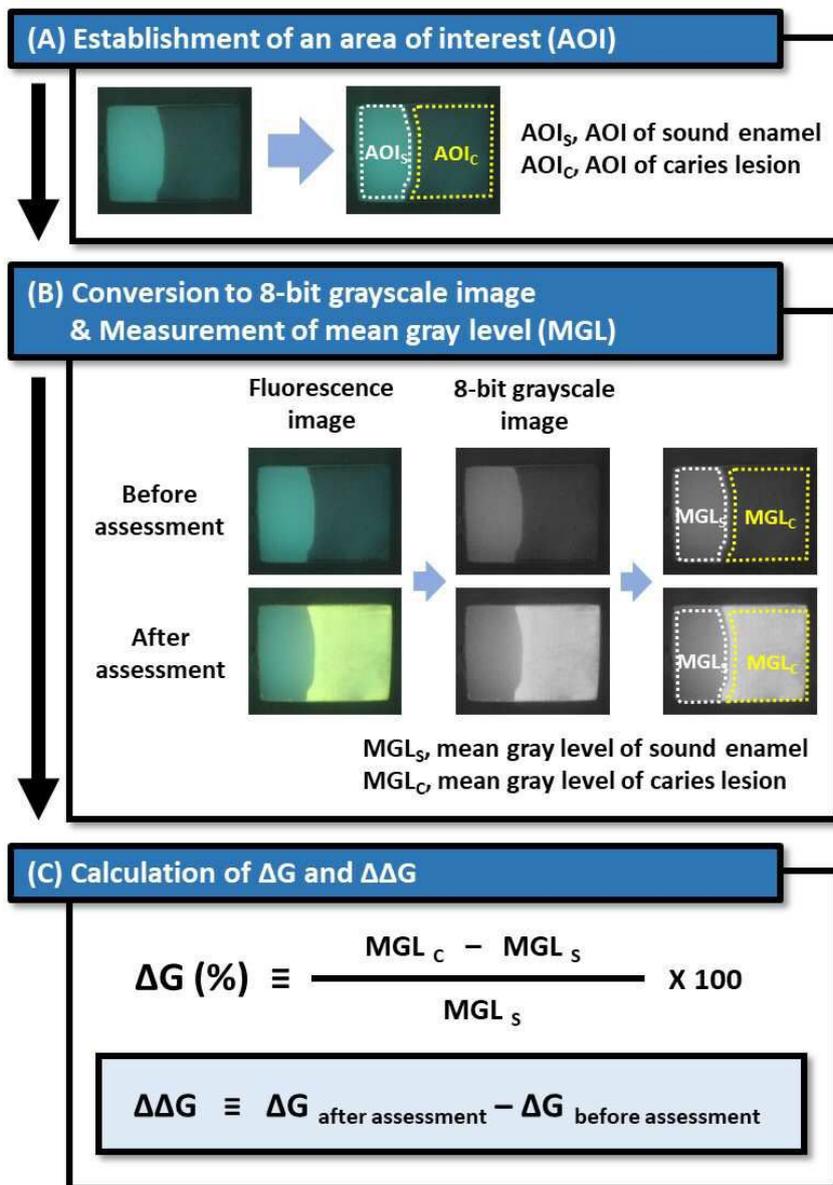
도면3



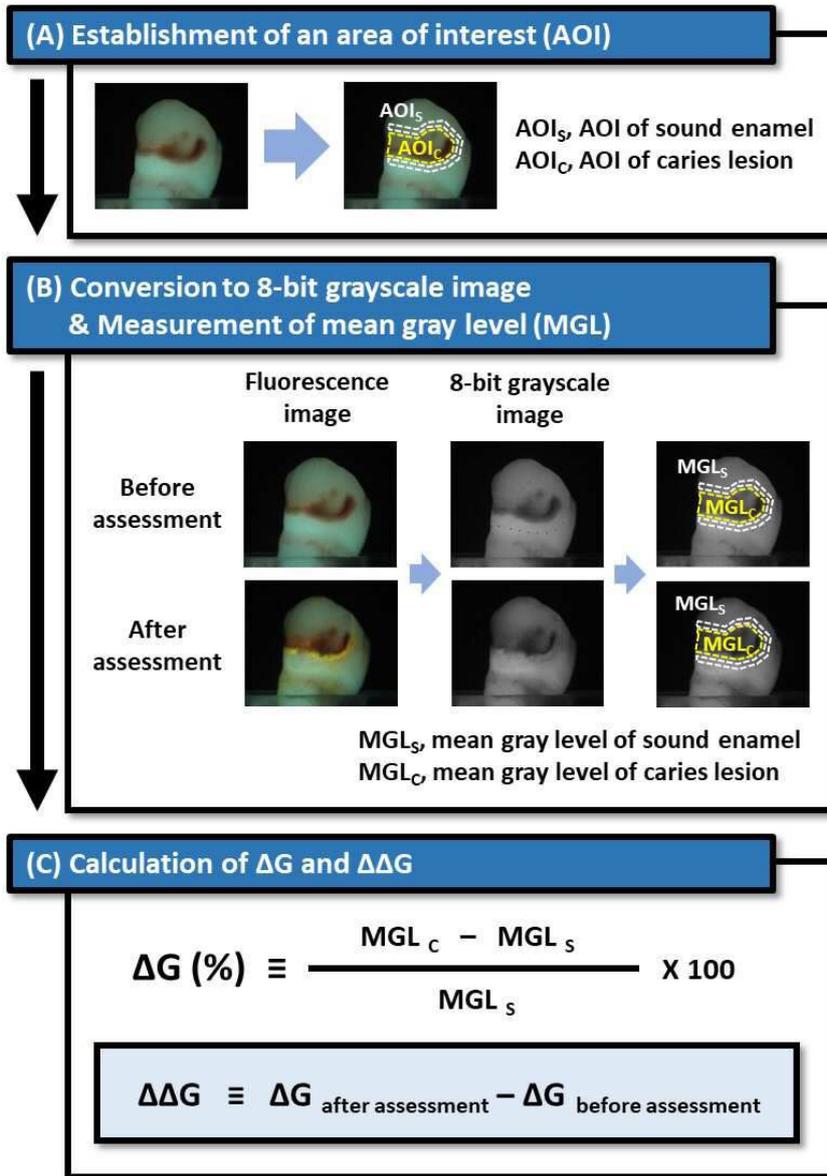
도면4



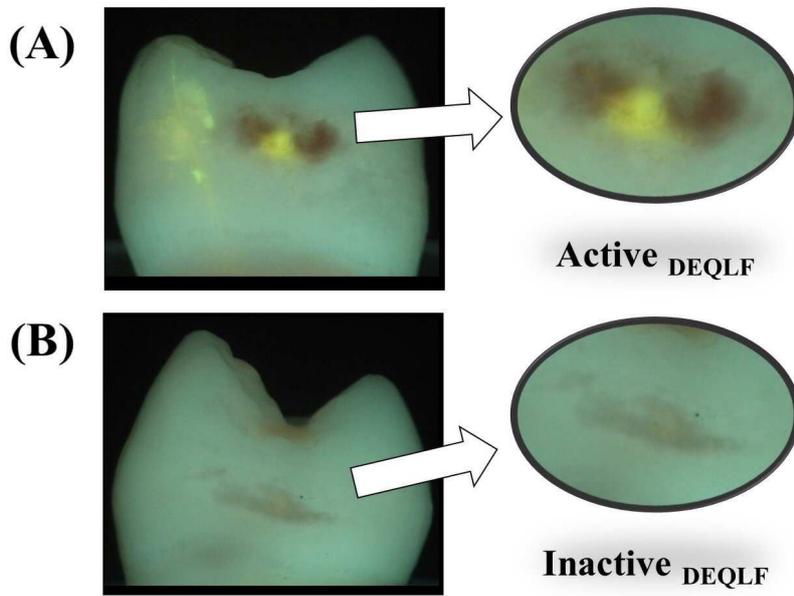
도면5



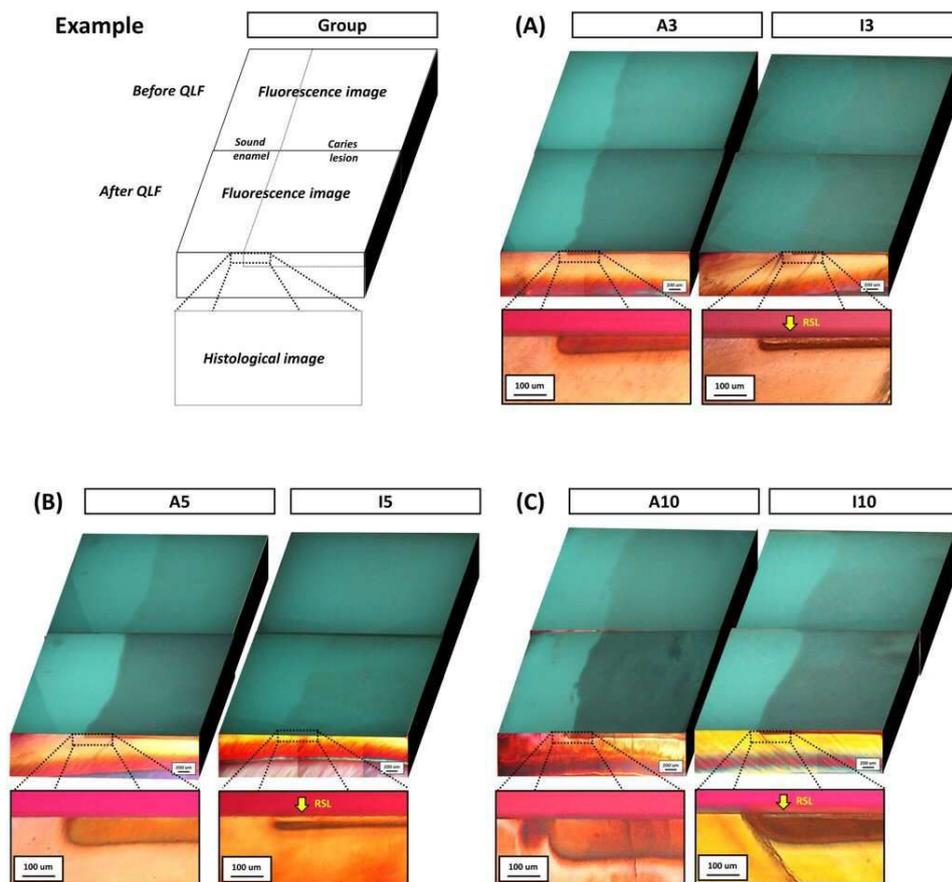
도면6



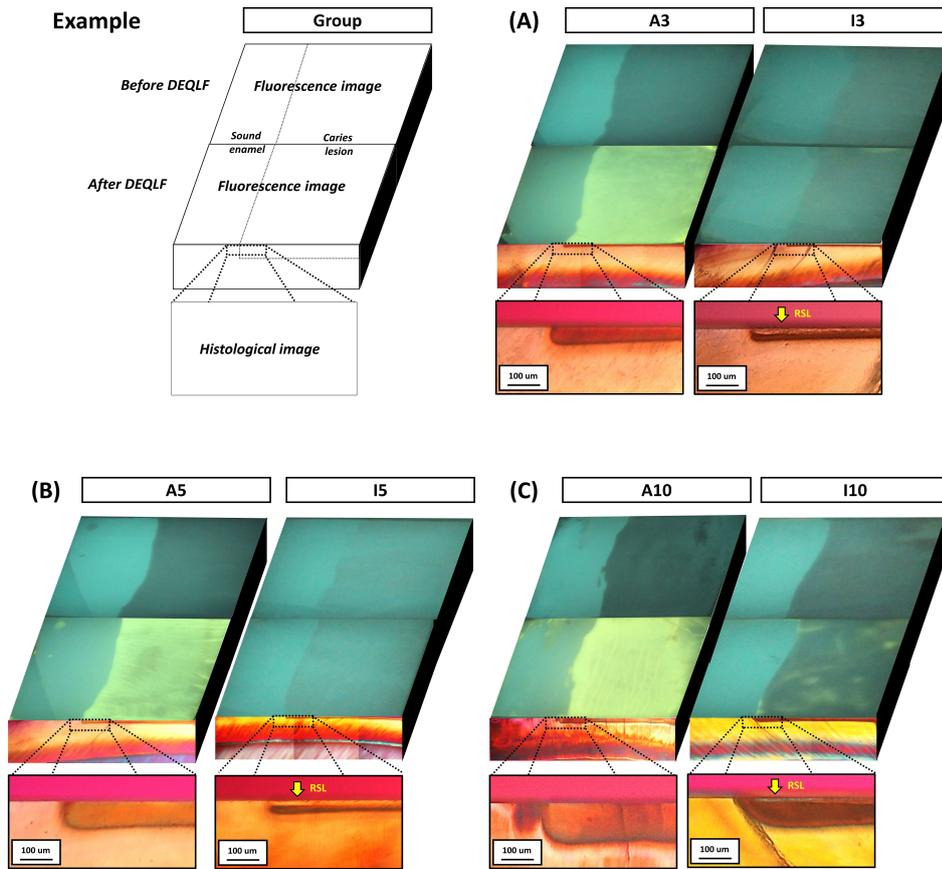
도면7



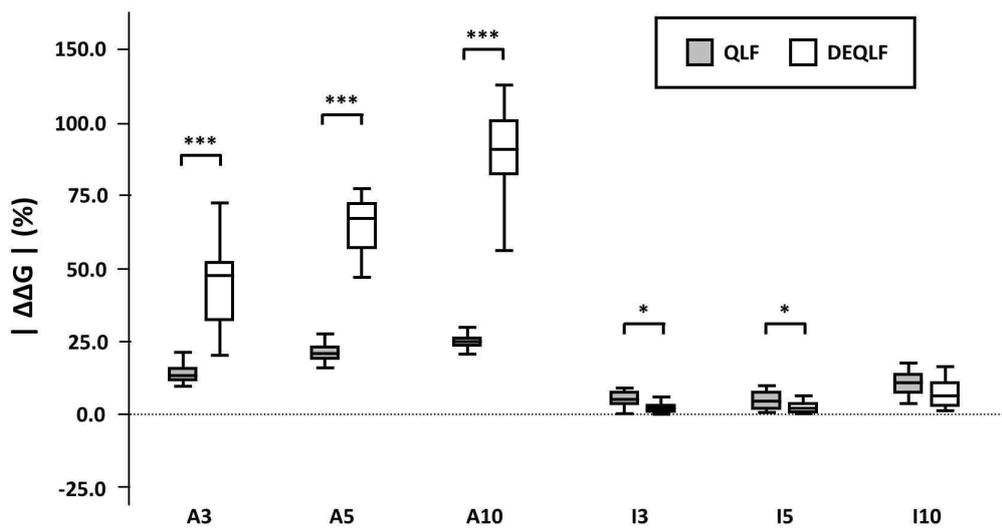
도면8



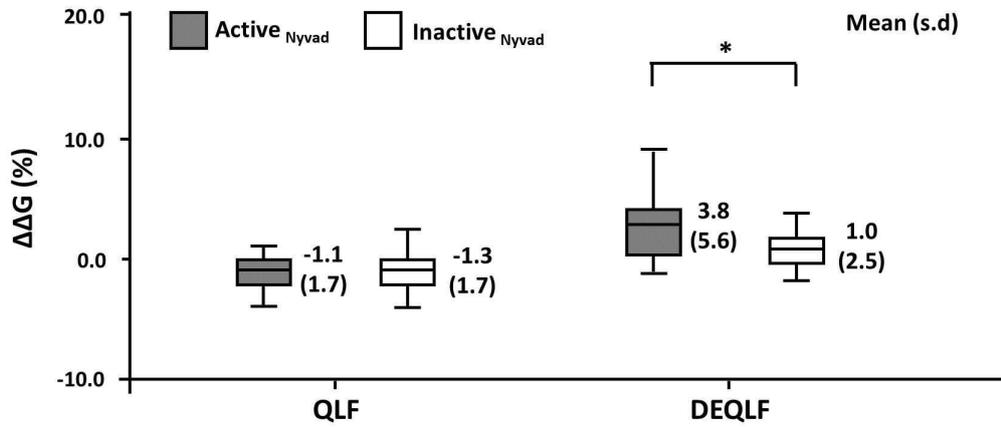
도면9



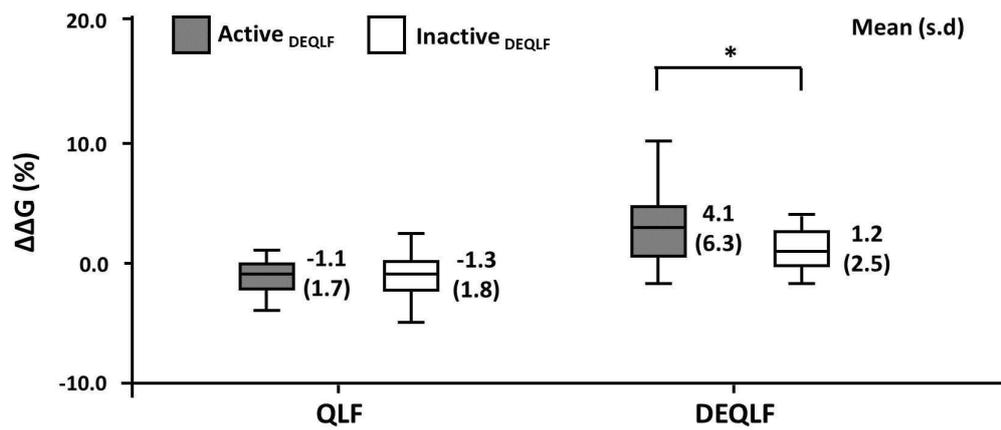
도면10



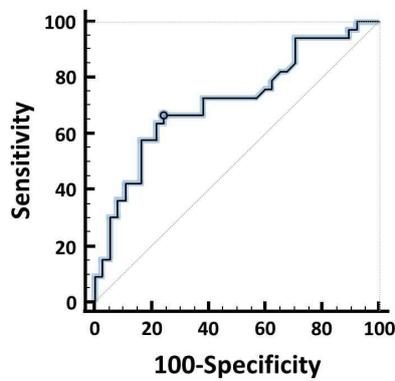
도면11



도면12

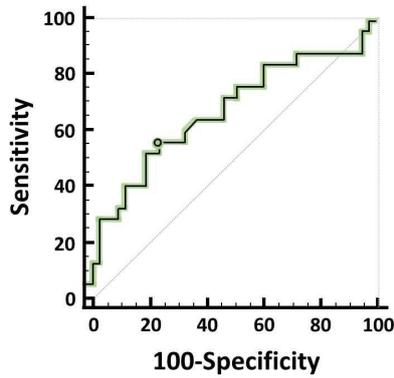


도면13



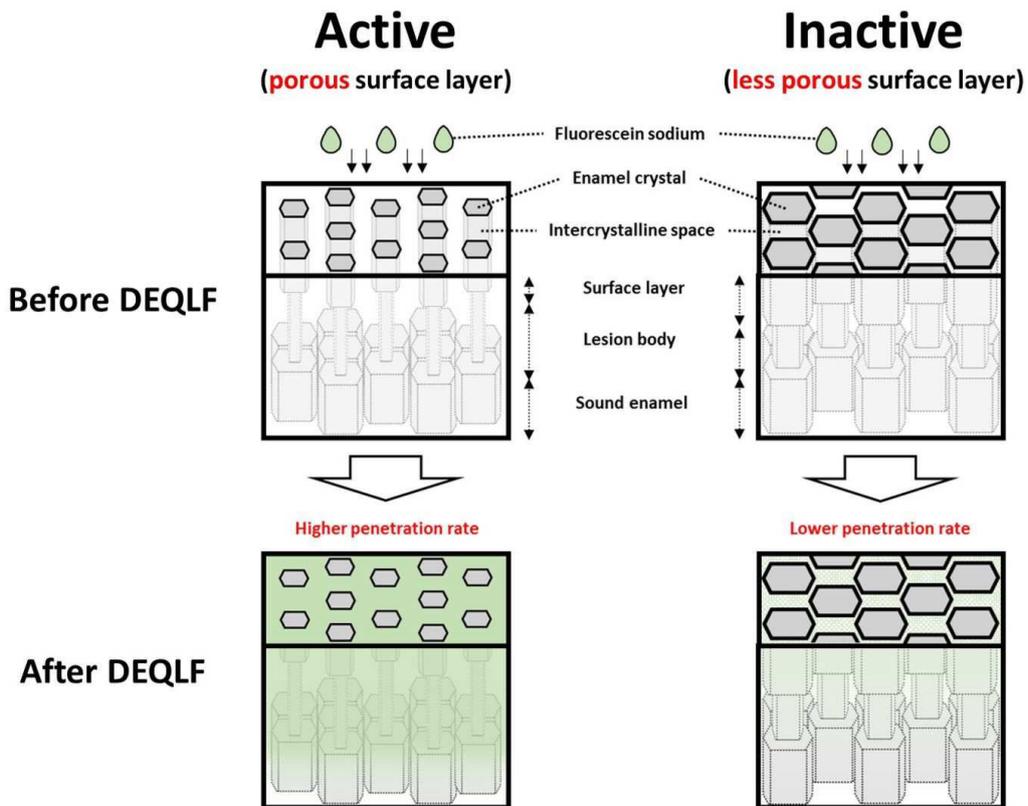
	$\Delta\Delta G$
Cut-off (Inactive _{Nyvad} /Active _{Nyvad})	> 1.47
AUROC (95% CI)	0.72 (0.60-0.82)
P-value	< 0.001
Sensitivity	0.67
Specificity	0.76

도면14



	$\Delta\Delta G$
Cut-off (Inactive _{DEQLF} /Active _{DEQLF})	> 2.51
AUROC (95% CI)	0.68 (0.54-0.81)
P-value	< 0.001
Sensitivity	0.58
Specificity	0.80

도면15



도면16

