

백서 전치의 법랑질형성 양상에 관한 주사현미경적 연구

경희대학교 치과대학 보존학교실

민 효 기

- 목 차 -

- I. 서 론
- II. 연구재료 및 방법
- III. 연구성적
- IV. 총괄 및 고안
- V. 결 론
- 참고문헌
- 영문초록
- 사진부도 및 설명

I. 서 론

법랑질은 중배엽으로부터 유래되는 상아질이나 백아질, 골조직과는 달리 외배엽에서 유래되는 경조직으로서, 성숙된 법랑질의 경우, 무게비로 약 96% 정도가 무기질로 이루어져 치아 치관부의 상아질을 최외부에서 보호하고 있는 단단한 특수조직이어서¹⁾ 보존학적으로도 매우 중요하게 여겨지는 조직이라 하겠다.

이러한 법랑질은 발생초기의 법랑기중 내법랑상피(inner enamel epithelium)와 중간세포층(stratum intermedium)세포가 상아아세포와 서로 유도작용을 하여 형성되기 시작되는데, 이때 내법랑상피는 특수한 원추형의 법랑아세포로 분화되고 이로부터 세포밖으로 법랑기질을 형성해 내어 이곳에 무기물이 침착됨으로써 이루어지는 것이다.²⁾

법랑질은 발육시에 두 단계의 과정, 즉 연하고 투명하며 부분적으로만 석회화되는 법랑질형성 과정과, 단단하게 석회화되는 성숙과정을 거치게 되

는데³⁾ 이에 대해서는 Simmelink⁴⁾가 법랑질 형성에 대해, 법랑아세포가 부분분비의 방법으로 세포밖으로 유기질을 분비해 내어 법랑기질을 형성하면 이곳에 법랑질의 결정체가 배열되어 상아-법랑질 경계부와 향후 형성될 법랑소주간격에서 법랑질이 형성되기 시작한다고 하였고, Angmar-Mansson⁵⁾ 이 법랑질 석회화에 대해, 법랑기질내의 무기질 침착이 상아-법랑질 경계부 측으로 점차 진행된다고 보고한 바 있다.

이와 같은 법랑질의 형성, 성숙되는 과정 중에는 여러가지 세포의 형태 및 기능의 변화⁶⁾, 법랑기질내 결정체의 변화⁷⁾, 그리고 이에 따른 법랑기질의 화학적 성분 변화⁸⁾등이 나타나게 되며, 이러한 일련의 변화로 법랑질의 석회화되는 양상은 형성단계에 따라 서로 상이하게 나타나게 된다. 이에 대한 연구는 많은 학자들에 의해 여러가지 실험방법으로 증명되거나 추구되어 왔으나, 법랑질의 형성단계에 따른 석회물의 침착 양상에 관한 연구는 희유한 편이다.

이에 저자는 법랑질의 성장양상이 사람과 백서에 동일하게 나타난다는 점에 착안하여⁹⁾ 생존기간 동안 계속 성장 발육하는 백서의 전치를 사용하여 법랑질 표면의 유기질을 처리한 후 주사현미경으로 법랑질 석회물의 침착 양상을 관찰한 바, 다소의 의견을 얻었기에 이를 보고하고자 한다.

II. 연구재료 및 방법

연구동물로는 생후 2 주, 4 주, 6 주된 Sprague-Dowley계 백서를 각각 3 마리씩 모두 9 마리를 사용하였고, 이들은 ether마취액으로 흡입 마취 시킨 후 경추를 이탈시켜 희생시켰다.

이로부터 절취된 하악골은 20% KOH 용액에 넣어 60°C의 항온기 내에서 1시간 동안 처리한 후, 전치가 손상을 받지 않도록 연화된 악골을 제거하였고, acetone으로 세척하였다.

세척된 전치 시료는 다시 20% KOH용액에서 10분간 처리하여 치아의면의 유기질을 모두 제거하였으며, acetone을 사용하여 깨끗이 수세하고 건조, 경화시켰고 실체현미경하에서 건조된 조직의 유기질 잔존유무를 확인하였다. 주사현미경 관찰을 위하여 시료는 전치의 측면이 상방을 향하도록 stub에 접착용 테이프를 이용하여 고정시켜 Eiko IB-3 coating machine으로 gold coating하였으며 Hitachi S-450 (15kv, 60A) 주사전자현미경을 사용하여 관찰하였다.

제작된 시료는 법랑질 외면의 형성 양상이 다르게 나타나는 여섯 부분을 선택하여 치근단측으로부터 교두부측으로 유형 1부터 유형 6까지로 6부분을 설정하여 관찰하였다.

III. 연구 성적

생후 기간을 달리하는 2주, 4주, 6주된 연구동물의 전치 협면의 법랑질 형성 양상은 대체로 유형 1부터 유형 6까지 공히 유사한 소견을 보였다.

1. 유형 1

법랑질의 석회화 구조물이 나타나기 시작하는 부위로 부터 치근단측으로 바로 인접하여 유기질 성분의 법랑기질 만이 형성된 부위로서, 불규칙하나마 전반적으로는 평편한 치근 상아질의 외면이 관찰되었다(Fig. 1).

2. 유형 2

법랑질의 석회화 구조물중 가장 치근단측에 나타나는 초기 형성 법랑질로서, 평편한 치근 상아질 외면 위에 기저부가 넓고 상부가 뾰족한 피라미트형의 법랑질 석회화 구조물이 다양한 크기와 모양으로 매우 불규칙하게 백서 전치 외면에 발생하는 것이 관찰되었다(Fig. 2).

3. 유형 3

매우 불규칙하게 발생된 신생 법랑질 석회화물로부터 교두부측에 나타나는 법랑질로서, 하부의 불규칙한 피라미트형의 신생 법랑질 석회화물 외면에 비교적 규칙적인 6각형의 벽과 중심을 갖는 벌집모양의 구조물이 관찰되었다(Fig. 3, 4).

4. 유형 4

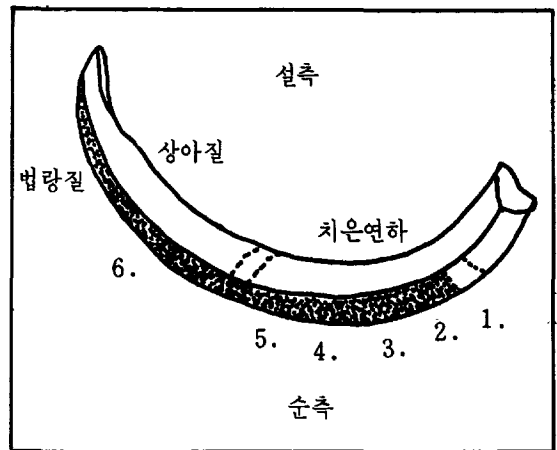
벌집모양의 구조물 보다 교두부측에 나타나는 법랑질로서, 벽과 중심의 형성양상이 불규칙하게 구성된 법랑질 구조물이 관찰되었다(Fig. 5).

5. 유형 5

유형 4 보다는 교두측에 위치하나 치은연 하부에 위치되어 외부에 노출되지 않은 법랑질로서, 벽과 중심의 구조는 인지할 수 없었고 매우 불규칙한 석회화물이 외면에 침착되어 매우 거친 표면을 이루고 있었다(Fig. 6).

6. 유형 6

치은연 상부로 구강내에 노출된 법랑질로서, 0.1 μ 정도 크기의 작고 둥근 석회화물이 매우 치밀하게 침착되어 매우 성숙되었고 전반적으로는 평편한 표면을 이루고 있었다(Fig. 7).



IV. 총괄 및 고안

법랑질은 발생초기에 법랑기의 내법랑상피가 법랑아세포로 분화됨으로써 형성되는 것인데¹⁾, 이때 내법랑상피의 기저부측에 일렬로 배열되어 있는 중간층 세포는 외법랑상피(Outer enamel epithelium)와 성상망조직(Stellate reticulum)이 법랑질 형성 중에 관여하지 못하도록 하는 중요한 역할을 해 주므로²⁾, 내법랑상피세포와 더불어 법랑질을 형성하는 한 기능단위로서 간주되고 있다.³⁾

이 단위세포들은 자기 기능에 따른 조직의 발육에 따라 일련의 변화 과정을 거치게 되는데, 특히 내법랑상피세포는 기능적 생애의 한계를 갖고⁴⁾ 독특한 극성을 가지며 법랑질 형성면 측에 특수한 Tome's 돌기를 갖는 긴 원주상의 법랑아 세포를 형성하게 된다.⁵⁾

이와같이 형성된 법랑아 세포는 상아질이나 골조직에서 관찰되는 교원질과 유사하기는 하나¹⁰⁾ hydroxyproline이 결여된 상이한 유기질인 법랑기질을 분비해 내어 향후 법랑질의 hydroxyapatite 결정체가 침착되고 성장할 수 있게 하는데 필수적으로 작용하게 한다.¹¹⁾

법랑아 세포로부터 분비되는 유기질에 관해서는 많은 연구가 보고 되었는데, Simmelink⁶⁾, Osborn과 Ten Cate⁷⁾ 등은 법랑아 세포내에 많은 분비소포가 응집되어 이것이 세포막과 결합됨으로써 세포밖으로 유출되어 법랑기질을 형성하게 된다고 하였으며, Paulson¹²⁾은 충분한 기질이 상아질 위에 형성되게 되면 법랑아 세포의 세포막이 기질내로 돌출되어 Tome's 돌기를 형성하고 계속해서 분비작용을 하게 된다고 하였다.

법랑질은 발육과정 중에 조직학적, 화학적, 물리적 변화를 갖는 형성, 성숙의 일련의 과정을 밟게 된다.^{6, 13)}

초기에 법랑기질에 유입되는 Ca는 아직까지 그 정확한 기전은 알지 못하나, Reith와 Cotty¹⁴⁾, Munhoz와 Leblond¹⁵⁾, Bawden과 Wennberg¹⁶⁾가 자기방사법을 이용한 실험을 통해 보고한 바와 같이 법랑기를 통하여 유입된다고 알려지고 있는데, 이들은 기질내에서 곧 결정체를 이루어 기질내에 산재되어

된다.³⁾

이 결정체는 Watson과 Avery¹⁷⁾, Nylen등¹⁸⁾, Travis와 Glimcher¹⁹⁾ 등이 보고한 바와 같이 초기에는 매우 얇고 긴 판상으로 존재하나 점차 두께와 넓이가 증가되어 법랑질의 석회화에 관여하게 되는데, Glick와 Eisenmann⁷⁾은 결정체가 법랑질 표면으로부터 상아-법랑질 경계부에 이르기 까지 일정한 정도의 크기 성장을 나타낸다고 보고한 바 있다. 이 결정체의 배열에 관하여는, 1933년 Kitchin²⁰⁾이 법랑질소주와 직각방향으로 배열되었다고 보고한 바가 있으나 그후 Watson과 Avery¹⁷⁾는 매우 복잡하나 기질에 의해 결정되는 방향으로 배열된다고 하였고, Travis와 Glimcher¹⁹⁾는 법랑소주의 장축과 평행한 방향으로 배열되어 법랑소주를 이루는 주역이 된다고 하였으며, Nylen¹⁸⁾은 점차 성숙되어 결국에는 매우 치밀한 육각형의 법랑소주를 형성한다고 하였다.

상아-법랑질 경계부에서의 법랑질은 그 형성양상이 성숙법랑질의 양상과는 다소 상이한 변을 가지고 있는데, Taylor²¹⁾는 결정체가 비교적 평평한 상아질면과 직각방향으로 서로 평행되게 배열된다고 하였고, Avery와 Visser²²⁾는 이 부위의 초기 석회화가 상아-법랑질 경계부를 따라 좁고 불분명한 띠의 형태로 퍼져 나간 후 점차 전 법랑기질내로 퍼져나간다고 하였으며, Losee등²³⁾은 경계가 불규칙적이고 불연속적인 이 부위에 유기질이 많아 치아우식증이 파급되기 쉬운 부위라고 지적한 바도 있다. 또한 Paulson¹²⁾은 이 부위에서 법랑소주의 방향이 매우 급히 변화되고 법랑질의 소주간법랑질(interprismatic substance)과 소주법랑질(Prism substance)의 비율이 서로 다르게 되어 무기화가 덜되게 되며 법랑질이 약하게 형성되고 법랑질의 $\frac{1}{8} \sim \frac{1}{3}$ 에 이르기 까지 연하고 덜 무기화된 tufts같은 구조물도 형성될 수 있다고 하였고, Warshawsky²⁴⁾는 법랑질이 초기에 형성되기 시작된 이 부위에서는 법랑소주를 인식할 수 없다고 보고한 바 있다.

이와같은 보고들은 본 연구에서 관찰된 유형 1과 2에서, 또는 불규칙하게 피라미드형으로 침착된 석회화물과 이 상층부에 형성된 유형 3의 규칙적인 석회화물간의 연결관계 등에서 잘 관찰할 수 있으며 이로 인한 여러가지 구조적 부조화가 야기되는

것으로 사료된다.

법랑질의 형성은 초기에 상아-법랑질 경계와 법랑아세포 사이에서 시작되게 되는데²⁵⁾, Allan²⁶⁾은 석회물 침착이 법랑기질 형성직후에 시작되며 점차 성숙되어 결국에는 법랑질내측이 법랑질 표면보다 높은 농도의 석회물 함량을 보이게 된다고 하여, Angmar-Mansson⁹⁾과 같은 견해로 보였고, Warshawsky²⁰⁾는 법랑질 중앙부에 6~8 열의 타원형 법랑소주를 형성한다고 하였으며, Taylor²¹⁾는 형성중인 법랑질 표면에 Tome's돌기가 존재하였던 부위를 중심으로 주위에 벽을 갖는 실린더 모양의 구조물을 형성하여 벌집모양을 띠게 된다고 한 바 있어 본 연구의 유형3과 유합되는 소견을 보여주고 있다.

법랑질이 형성되는 과정에서 법랑소주는 종말판(terminal bar)으로 부터 유래되는 소주간 법랑질과 법랑아세포의 세포질로 부터 유래되는 소주법랑질로 구성되는데²⁷⁾, Avery와 Visser²⁸⁾는 이 두 구조물 중, 기질화는 소주간법랑질에서 먼저 일어나나 석회화는 소주법랑질에서 먼저 이루어 진다고 하였고 이의 방향에 대해서는 Watson과 Avery¹⁰⁾가 법랑질 내측에서는 매우 불규칙한 양상이나 외측에서는 서로 평행으로 배열된다고 하였다. 법랑소주의 형태에 관해서는 그 정의가 아직은 불분명하나 Swancar²⁹⁾은 법랑질을 횡단하였을 때 육각형 또는 비늘모양, 말굽모양, 활모양 등으로 나타난다고 표현하였고 전자현미경상에서는 노모양(paddle-shape), 열쇄구멍모양으로 관찰되었다고 하였으며, Frisbie³⁰⁾는 거친 육각형의 모양이라고 보고한 바 있다.

이와같이 법랑질 형성이 진행된 후 성숙되는 과정에서, 법랑질에서는 고농도의 무기질화를 피하기 위하여 무기질화의 속도와 기질 유기성분의 양과 질의 변화가 매우 빠르게 일어나게 된다.⁹⁾ 이 때에는 Deutsch³¹⁾, Deutsch와 Peer³²⁾등이 보고한 바와 같이 초기에 많은 단백질과 수분, 비교적 적은 무기질을 가지고 있었던 법랑질로부터 단백질 성분과 수분이 감소되고 Ca, P등의 무기질이 증가되는데, Robinson³³⁾에 의하면 이 때 긴 원주상의 분비세포인 법랑아세포도 변화를 보여 Tome's돌기가 소실되며 크기도 50% 정도로 감소되어 기질형성을 정지하게 된다고 하였다.

이러한 변화로 인해 법랑질의 무기질 표면에도

구조상의 변화가 야기되게 된다. 이에 대해 Warshawsky³⁴⁾는 성숙법랑질의 표면이 매끄럽게 된다고 보고하였으며, Scott³⁵⁾은 균일한 과립상의 감축을 인지할 수 있었으나 각각의 결정체의 윤곽은 관찰하기 어렵다고 보고하였는데, 이 소견도 본 연구의 유형6과 유사한 소견이었다.

본 연구를 통해 저자는 법랑기 형성 초기와 형성중에 법랑질이 석회화되는 양상에 대하여 많은 선학들의 보고와 연관지워 볼 때 본 연구소견의 타당성을 인정할 수 있었으나 법랑질 형성 후에 이르러 육각형의 구조물이 불규칙해지고 그 구조물이 소실되며 거친 면을 나타내는 본 연구의 유형 4, 5에 대해서는 법랑아세포의 기능 변화나 석회물침착 방법에 대한 확실한 증거를 갖지 못 한 바, 향후 투과전자현미경이나 그 외의 자기방사법 또는 조직화학법 등의 보다 발전된 관찰방법을 사용하여 구연해 보는 것이 필요하리라고 생각한다.

V. 결 론

저자는 법랑질이 형성되고 성숙되는 과정중에 법랑질 석회물이 침착되는 형태의 변화를 관찰하기 위하여, 생존기간 동안 계속해서 성장 발육하는 백서의 전치를 대상으로, 20% KOH를 사용하여 유기질을 처리한 후, 형성 무기 법랑질의 외면 형태를, 치근단부 측으로부터 교두부 측에 이르기 까지 여섯 부분으로 나누어 주사현미경으로 관찰한 바, 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 법랑질 형성 초기의 무기물 침착은 매우 불규칙한 피라미드형의 구조물로 형성되었다.
2. 법랑질 형성과정 중의 무기물 침착은 비교적 규칙적인 육각형의 벌집모양으로 형성되었다.
3. 법랑질 형성 후기의 무기물 침착은 부정형으로 매우 불규칙하고 거칠게 형성되었다.
4. 법랑질 성숙 말기의 무기물 침착은 작고 둥근 석회화물에 의해 치밀하고 평편하게 형성되었다.

REFERENCES

1. Ten Cate, A.R.: ORAL HISTOLOGY. development, structure and function. 2nd ed. pp. 183-217, The C.V. Mosby Co. 1985.
2. Osborn, J.W. and Ten Cate, A.R.: ADVANCED DENTAL HISTOLOGY. 3rd ed. pp. 97-118, John wright and sons LTD, 1976.
3. Deutsch, D. and Pe'eri E.: Development of enamel in human fetal teeth. J. Dent. Res., 61: 1543-1551, 1982.
4. Simmelink, J.W.: Mode of enamel matrix secretion. J. Dent. Res., 61: 1483-1488, 1982.
5. Angmar-Mansson, B.: A quantitative micro-radiographic study on the organic matrix of developing human enamel in relation to the mineral content. Archs. Oral Biol., 16: 135-145, 1971.
6. Robinson, C., Kirkham, J., Briggs, H.D. and Atkinson, P.J.: Enamel proteins: from secretion to maturation. J. Dent. Res., 61: 1490-1495, 1982.
7. Glick, P.L. and Eisenmann, D.R.: Electron microscopic and microradiographic investigation of a morphologic basis for the mineralization pattern in rat incisor enamel. Anat. Rec. 176: 289-306, 1973.
8. Johnson, P.L. and Belevander, G.: The role of the stratum intermedium in tooth development. Oral Surg., 10: 437-443, 1957.
9. Schour, I. & Massler, M.: Studies in tooth development: the growth pattern of human teeth, JADA, 27: 1918-1931, 1940.
10. Geller, J.H.: Metabolic significance of collagen in tooth structure. J. Dent. Res., 37: 276-279, 1958.
11. Eastoe, J.E.: Organic matrix of tooth enamel. Nature, 187: 411-412, 1960.
12. Paulson, R.B.: Scanning electron microscopy of enamel tuft development in human deciduous teeth. Archs. Oral Biol., 26: 103-109, 1981.
13. Wassermann, F.: Analysis of the enamel formation in the continuously growing teeth of normal and vitamin C deficient guinea pig. J. Dent. Res., 23: 463-509, 1944.
14. Reith, E.J. and Cotty, V.F.: Autoradiographic studies on calcification of enamel. Archs. oral Biol., 7: 365-372, 1962.
15. Munhoz, C.O.G. and Leblond, C.P.: Deposition of calcium phosphate into dentin and enamel as shown by radioautography of sections of incisor teeth following injection of ^{45}Ca into rat. Calcif. Tiss. Res., 15: 221-235, 1974.
16. Bawden, J.W. and Wennberg, A.: In vitro study of cellular influence on ^{45}Ca uptake in developing rat enamel. J. Dent. Res., 56: 313-319, 1977.
17. Watson, M.L. and Avery, J.K.: The development of the hamster lower incisor as observed by electron microscopy. Am. J. Anat., 95: 109-159, 1954.
18. Nylen, M.U., Eanes, E.D. and Omnell, K.A.: Crystal growth in rat enamel. J. Cell Biol., 18: 109-123, 1963.
19. Travis, D.F. and Glimcher, M.J.: The structure and organization of and the relationship between the organic matrix and the inorganic crystals of embryonic bovine enamel. J. Cell Biol., 23: 447-497, 1964.
20. Kitchin, P.C.: Some observations on enamel development as shown in the mandibular incisor of the white rat. J. Dent. Res., 13: 25-37, 1933.
21. Taylor, R.S.: The development of enamel

- structures. Proc. R. Soc. Med., 60: 923-928, 1967.
22. Avery, J.D. and Visser, R.L.: Studies on formation and mineralization of enamel matrix. J. Dent. Res., 39: 712, 1960.
 23. Losee, F.L., Jennings, W.H., Lawson, M.E. and Forziati, A.F.: Microstructure of the human tooth. J. Dent. Res., 36: 911-921, 1957.
 24. Warshawsky, H.: A light and electron microscopic study of the nearly mature enamel of rat incisors. Anat. Rec., 169: 559-584, 1970.
 25. Irving, J.T.: The pattern of sudanophilia in developing rat molar enamel. Archs. Oral Biol., 18: 137-140, 1973.
 26. Allan, J.H.: Investigations into the mineralization pattern of human dental enamel. J. Dent. Res., 38: 1096-1107, 1959.
 27. Swancar, J.R., Scott, D.B. and Njemirovsteij, Z.: Studies on the structure of human enamel by the replica method. J. Dent. Res., 49: 1025-1033, 1970.
 28. Frisbie, H.E.: Distribution of the organic matrix of the enamel in the human tooth and its relation to the histopathology of caries. J. Am. College of Dent., 11 243-279, 1944.
 29. Deutsch, D., El-Attar, I., Robinson, C. and Weatherell, J.A.: Rate and timing of enamel development in the deciduous bovine incisor. Archs. Oral Biol., 24: 407-413, 1979.
 30. Scott, D.B., Ussing, M.J., Sognnaes, R.F. and Wyckoff, R.W.G.: Electron microscopy of mature human enamel. J. Dent. Res., 31: 74-84, 1952.

– ABSTRACT –

A STUDY ON FORMING PATTERN OF ENAMEL IN WHITE RAT INCISOR

Hyo-Kie Min, D.D.S.

Department of Operative Dentistry Division of Dentistry, Kyung Hee University

This study was designed to investigate the changing depositional pattern of inorganic enamel substances during enamel formation and maturation.

For this purpose, white rat incisors which continuously grow and develop during the life, were chosen as specimens.

And after treated with 20% KOH solution, outer surface of forming inorganic enamel were observed with the scanning electron microscope, dividing into 6 types according to the forming pattern from apical to cuspal direction.

The observations lead to the following conclusions:

1. During the initial enamel forming stage, inorganic enamel substances were deposited with very irregular pyramidal shape on the root dentin surface.
2. During the enamel forming stage, inorganic enamel substances were deposited with relatively regular hexagonal, honey-comb appearance.
3. During the later enamel forming stage, inorganic enamel substances were deposited with very irregular and roughly amorphous appearance.
4. During the later enamel maturing stage, very small and round inorganic enamel substances were deposited densely, and made a flat enamel surface.

EXPLANATION OF FIGURES

- Fig. 1.** Scanning electron microscope shows generally flat root dentin surface which has slight roughness.
(Type I)
- Fig. 2.** Scanning electron microscope shows pyramidal shaped inorganic enamel deposits which have variable size and shape.
(Type II)
- Fig. 3.** Scanning electron microscope shows relatively regular, hexagonal deposits which have walls and cores like the honey-comb.
(Type III)
- Fig. 4.** Scanning electron microscope shows hexagonal deposits laying on the pyramidal shaped ones. It is high power view of Fig. 3.
(Type III)
- Fig. 5.** Scanning electron microscope shows inorganic enamel deposits which have irregular forming pattern of walls and cores.
(Type IV)
- Fig. 6.** Scanning electron microscope shows very irregular inorganic enamel deposits which have no walls and cores and very rough surfaces.
(Type V)
- Fig. 7.** Scanning electron microscope shows matured flat enamel surface which is composed with small and round inorganic deposits densely.
(Type VI)

논문사진부도 ①

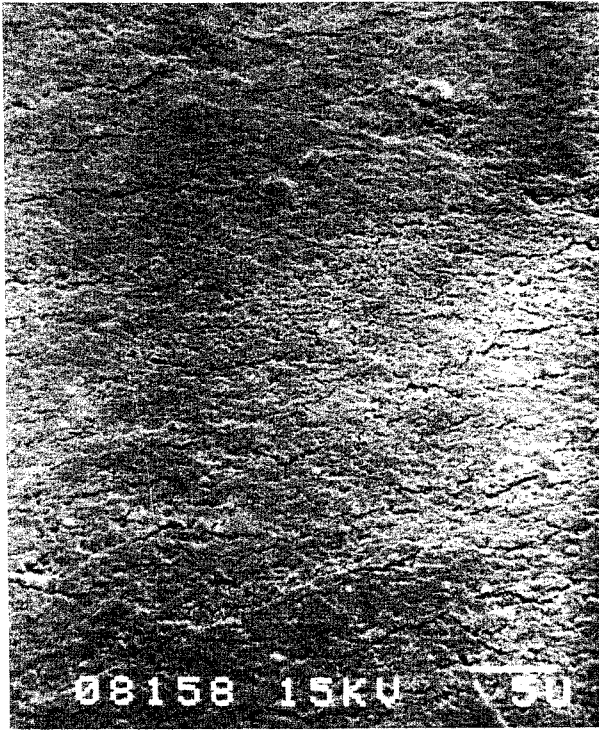


Fig. 1.

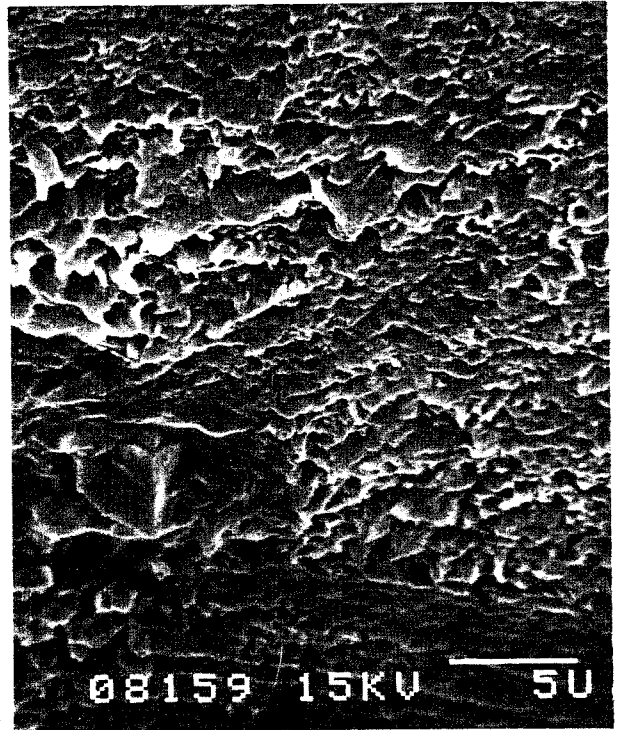


Fig. 2.

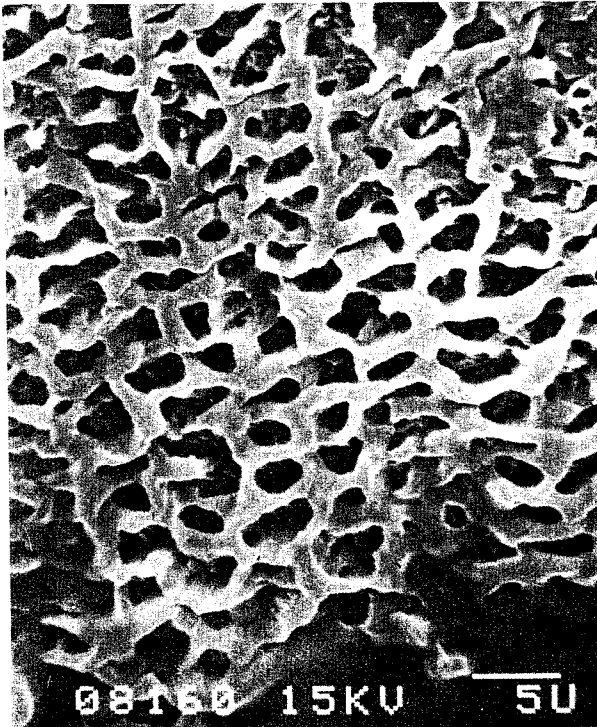


Fig. 3.



Fig. 4.

논문사진부도 ②



Fig. 5.

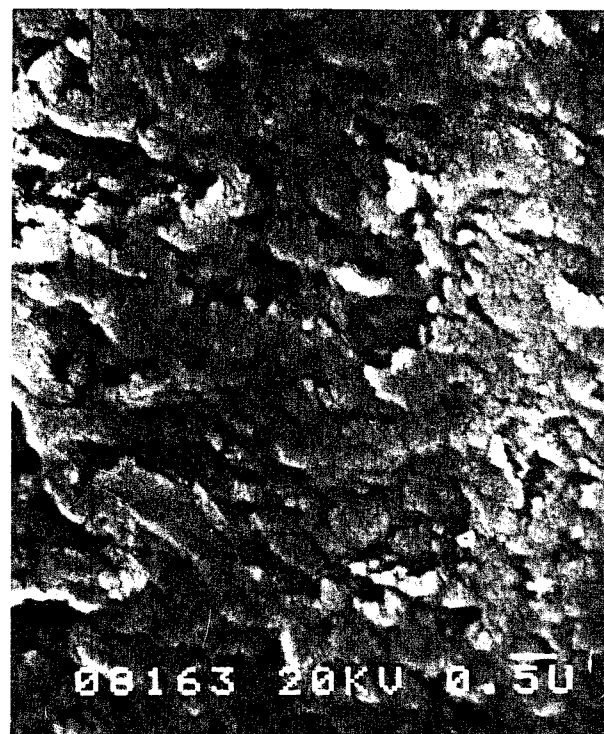


Fig. 6.

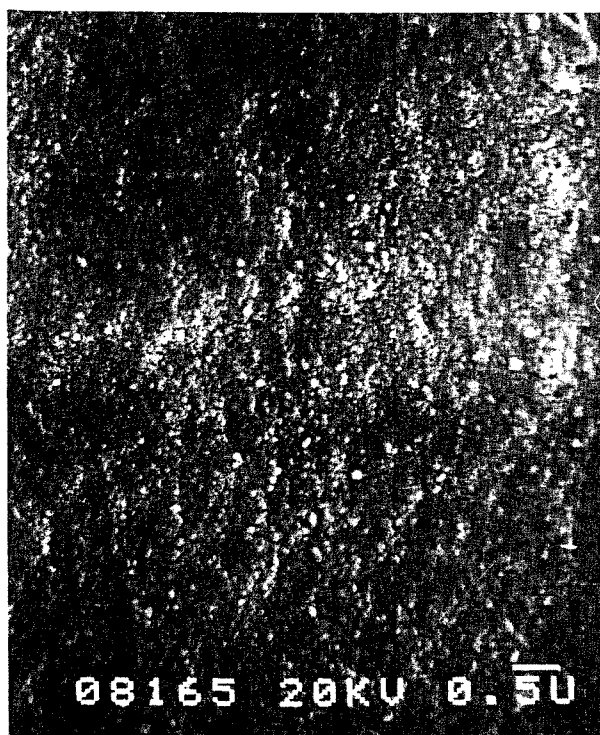


Fig. 7.