

방사선 분할조사가 타액선 도관세포에 미치는 영향에 관한 전자현미경적 연구

경희대학교 치과대학 치과방사선학교실

김성수 · 이상래

목 차

- I. 서론
- II. 실험재료 및 방법
- III. 실험성적
- IV. 총괄 및 고안
- V. 결론
 - 참고문헌
 - 영문초록
 - 사진부도 설명
 - 사진부도

I. 서 론

악성종양의 치료법으로는 외과적, 화학적 치료법과 더불어 방사선조사에 의한 치료법등이 있으며 이들은 단독으로 혹은 병용되고 있다. 이러한 방사선조사는 종양조직뿐만 아니라 주위 건강조직에도 영향을 미쳐 치아의 성장발육^{1,2)} 및 구조³⁾, 구강점막^{4,5)}, 악골^{6,7)}, 타액선^{8,9)}등에 이상을 초래하게 된다.

이러한 변화는 생체조직내로 흡수된 방사선이 물리적, 화학적 및 생화학적 과정을 거쳐 조직에 대한 생물학적 손상의 형태로 나타나는데^{10,11)}, 이들 결과는 조사대상, 조사방법, 조사선량과 선량률, 사용된 방사선질에 따라 그 정도에 다소 차이가 있게 된다.¹²⁻¹⁴⁾

이 중에서도 조사방법에 있어, 분할조사법은 단회조사법에 비해 인접조직이 1차 조사로 인한 준치사 손상(Sublethal damage)으로부터 회복될 수 있는 가능성을 높게 해주며 종양조직 자체의 산소요구량의 증가로 인하여 방사선에 의한 치료효과가 높아지게 되므로 방사선치료시에 널리 사용되고 있다.¹⁵⁾

타액선은 방사선조사를 받으면 종창이 유발되고 타액의 pH가 감소되며 타액의 양이 감소될 뿐만 아니라, 타액의 점조도는 증가되어 다발성 치아우식증과 구강건조증 나아가서는 미각상실이나 연하장애등의 기능장애도 초래된다.¹⁶⁻¹⁸⁾

1911년 Bergonic와 Speder¹⁹⁾가 방사선조사로 인한 타액선기능의 변화와 속발되는 구강내의 여러 가지 증상에 관하여 보고한 이래 Santangelo와 Toto (1965)²⁰⁾, Brenk등(1969)¹⁶⁾은 타액선의 구조와 기능의 변화에 대해 연구보고 하였으며 국내에서도 고(1988)²¹⁾, 최(1988)²²⁾등에 의해 타액선 선세포와 선도관세포에 관한 전자현미경적 연구가 보고된 바 있다.

타액선조직은 선포조직과 윤관, 선도관, 소도관, 주도관등의 각 구성성분에 따라 각기 방사선조사에 대한 감수성이 달라 그 영향도 서로 상이하게 나타난다.^{23,24)}이중 타액선분비과정중에 조직내의 전해질균형을 유지시켜 주며 타액의 성분을 결정지워주는 윤관세포²⁵⁾는 세포질내에 소수의 내형질망과 Golgi체를 함유하고, 세포내에 소포를 가지고 있으며²⁶⁾, 선세포에 비해 방사선에 대한 감수성이 낮으나 방사선조사 후에 타액의 pH 및 성분변화^{26,27)}에 많은 영향을 미치리라고 생각되는데 이에 대한 연구 특히 미세구조적 연구는 그리 많지 않은 실정이다.

이에 저자는 방사선조사가 타액선 도관세포에 미치는 영향을 구명하고자 임상에 널리 사용되고 있는 방사선 분할조사법으로 15Gy 단회조사와 동등한 생체 영향을 줄 수 있는 조사선량인 9Gy를 2회 조사하여, 백서의 이하선 선도관에서 나타나는 변화를 전자현미경으로 관찰한 결과 다소의 지견을 얻었기에 이를 보고하는 바이다.

II. 실험재료 및 방법

실험동물은 일정조건하에서 사육된 체중 100gm 내외의 Sprague-Dawley계 웅성백서 36두로서, 대조군이 4두, 방사선조사실험군이 32두 이었다.

방사선조사는 Co-60심부치료기(Picker model, 4M60)를 사용하였으며, 조사범위 12×5cm, 선량을 222cGy/min, 관구와 피조사체간의 거리 50cm, 심도 1cm가 되도록 하여 9Gy의 방사선을 두경부에 4시간 간격으로 2회 조사하였다.

실험동물은 방사선조사 후 1,2,3,6,12시간, 1,3,7일에 각 군당 4두씩을 2.5% glutaraldehyde액 (p-phosphate buffer, pH7.4)으로 혈관관류고정을 하여 희생시켰으며, 이하선을 절취하여 2.5% glutaraldehyde 용액(phosphate buffer, pH7.4)에 2시간 전고정하였다. 전고정된 조직편을 1% osmium tetroxide액(phosphate buffer, pH7.4)에 후고정한 후 각급 alcohol과 acetone으로 탈수시킨 다음 Epon812에 포매하였다. 포매조직은 ultramicrotome(Sorval MT 600)으로 초박절편을 작성하였고, 이들을 uranyl acetate와 lead citrate로 염색한 다음 투과전자현미경(ISI-LEM 2000)으로 검경하였다. 광학현미경 관찰을 위하여는 제작된 시료를 ultramicrotome으로 1 μ m두께의 절편을 작성하여 1% toluidine blue염색을 시행하여 관찰하였다.

III. 실험성적

1. 대조군

광학현미경상에서 이하선의 윤관세포는 작은 입방형으로 중심부에 핵을 가지고 있었으며 기저막위에 배열되어 있었고 toluidine blue염색에 밝게 염색되었다.

전자현미경상에서 내형질망과 Golgi체가 뚜렷이 관찰되었고 유막소포가 세포의 첨부측에서 다수 관찰되었으며 관강측 세포막은 짧고 많은 미음모로 구성되어 있었다.

2. 실험군

1) 광학현미경적 소견

방사선조사 1시간후에는 핵과 세포질이 매우 불규칙하게 위축되었고 선도세포 세포층이 부분적으로 비박되었으며(Fig. 1), 방사선조사 2시간후에는 불규칙한 모양의 핵이 다소 농염되었고

세포질도 약간 증가되었으나 선도관의 내면과 관강이 불규칙하였으며 세포의 배열도 다소 불규칙해졌다(Fig. 2).

방사선조사 3시간후에는 핵이 둥근 모양으로 크기가 증가되었고 농염되었으며 세포질도 더욱 증가되어 커다란 입방형의 세포로 변화였고 관강은 내면이 활택하면서 둥근 모양으로 되었고, 선도관 세포의 일부는 증식되어 불규칙하게 배열된 소견도 관찰되었다(Fig. 3).

방사선조사 6시간후에는 도관세포가 심하게 변성되어 핵과 세포질과의 경계가 불분명하였고, 일부 도관세포는 편평형을 나타내며 세포질은 매우 농염되었고, 주위 결체조직과도 심하게 이개되었다(Fig. 4).

방사선조사 12시간후에는 도관세포가 편평형으로 되었으며, 크기가 다양한 핵이 불규칙하기는 하나 세포질과 구별되었고 선도관세포는 증식되어 1~2열로 배열되었으며 주위 결체조직과도 잘 결합된 소견을 보였다(Fig. 5).

방사선조사 1일후에는 핵과 세포질의 크기가 모두 증가되어 키가 큰 원주형의 세포가 1열로 배열되었고 핵은 중심부에 위치하였으나(Fig. 6), 방사선조사 3일후에는 핵과 세포의 크기가 점차 감소되어 키가 낮은 원주형의 세포로 배열되었다(Fig. 7). 방사선조사 7일후에는 입방형의 세포가 1열로 배열되고 거의 정상으로 회복되어 대조군의 소견과 매우 유사하였다(Fig. 8).

2) 전자현미경적 소견

(1) 방사선조사 후 1시간군

핵막은 뚜렷하게 관찰되었으며, 세포첨부의 세포막은 얇은 미음모가 발달되었으며 인접세포질에는 불분명한 경계를 갖는 분비과립이 다수 관찰되었다.

세포질내에는 유리리보솜이 풍부하게 관찰되었고 과립성 내형질망도 잘 발달되었다. 그러나 일부 세포에는 세포질내 변성물질과 심하게 이완된 과립성 내형질막이 관찰되었다. 세포간 교소체는 촘촘하고 뚜렷하게 관찰되었다(Fig. 9).

(2) 방사선조사 후 2시간군

핵막이 부분적으로 불분명해졌으며 세포첨부의 세포막은 여전히 많은 수의 미음모를 가지고 있

었고, 그 주위에는 크고 작은 분비과립이 다수 관찰되었다.

세포질내의 유리리보솜은 다소 감소된 경향이었고 세포간 교소체의 장원섬유도 다소 감소되어 위축된 소견을 보였다(Fig. 10).

(3) 방사선조사 후 3시간군

넓은 부위에 걸쳐 핵막이 소실되어 핵과 세포질과의 경계가 불분명해졌고 이염색질이 다소 증가되었으며 건성 염색질이 희박해졌다. 세포첨부의 미용모의 수는 매우 감소되었고 부분적으로 응집되거나, 일부에서는 불분명해지기도 하였으며 인접된 세포질내에서 분비과립을 관찰할 수 없었다.

세포질내의 유리리보솜 및 부착리보솜 모두가 감소되었으며 세포질 전반에 걸쳐 자가탐식체가 산재되어 관찰되었고 세포간 교소체는 매우 취약해졌다(Fig. 11).

(4) 방사선조사 후 6시간군

핵막이 완전히 소실되어 핵과 세포질의 경계가 불확실하게 되었으며, 핵내 염색질도 변성되어 불분명하게 미반성으로 분포되었고, 핵질과 세포질 전반에 걸쳐 전자밀도가 높은 작은 과립상의 치밀체가 산재되었다. 세포첨부의 미용모의 수는 매우 감소되었고 그 형태도 매우 위축되었으며 세포질내 소기관은 모두 변성되어 구별하기 어려웠고 세포간 교소체도 변성되어 형태가 불분명해졌다(Fig. 12).

(5) 방사선조사 후 12시간군

불분명하기는 하나 핵막이 부분적으로 재생되었고, 이염색질이 핵의 주변부에 한정되어 얇게 분포되었으며 건성 염색질이 넓은 영역을 차지하고 있었고 핵의 함몰이 관찰되었다.

선도관의 세포는 2열로 배열되었는데, 기저막층의 세포는 실활되어 변성물질이 핵 주위를 둘러싸고 있었고 세포간 교소체는 수가 매우 감소되어 세포간극이 현저히 이개되었으며 이 사이에는 변성물질이 존재하고 있었다.

그러나 관강층의 재생되는 생활세포에는 핵 주위에 작은 크기의 사립체와 세포질 전반에 소수의 유리리보솜이 출현하였고 미성숙된 과립성 내형질망도 소수 관찰되었다. 또한 세포간의 교소체도 뚜렷한 모양으로 수의 증가를 보이며 발육되

었다(Fig. 13).

(6) 방사선조사 후 1일군

뚜렷하지는 않으나 전반적으로 핵막이 관찰되었으며 핵의 함몰은 소실되었으나 여전히 핵내에는 진정 염색질이 대부분을 차지하고 있었다. 세포내의 유리리보솜과 과립성 내형질망은 다소 증가되었고 세포간 교소체의 수도 더욱 증가되었으며 매우 발육되었다(Fig. 14).

(7) 방사선조사 후 3일군

핵막이 뚜렷해졌으며 세포첨부의 세포막에 미용모가 돌출되기 시작하였고, 핵주위에는 작고 전자밀도가 높은 사립체가 다수 출현하였다. 세포간 교소체도 장원섬유가 풍부하게 발육된 형태로 매우 치밀하게 배열되었다(Fig. 15).

(8) 방사선조사 후 7일군

핵내 진성 염색질은 여전히 넓은 부분을 차지하고 있으나 방사선조사 후 1시간군에서 보다는 성글게 분포되었고, 형태적으로 전형적이지는 못하나 세포첨부의 미용모가 매우 발육되었으며 인접세포질내에는 유막 또는 무막의 분비과립이 다수 출현되기 시작하였다.

세포질내에는 사립체능이 뚜렷하고 크게 확장된 사립체가 다수 관찰되었으나 전자밀도는 다소 감소되었고, 유리리보솜과 과립성 내형질망의 수는 그리 증가되지는 않았지만 매우 발달된 소견을 보였다(Fig. 16).

VI. 총괄 및 고안

방사선이 생체에 흡수되면, 방사선의 직접작용 또는 물분자동과의 작용으로 형성된 유리기에 의한 간접작용에 의하여 생물학적 영향이 발현된다.^{10, 28)} 생물학적 영향의 정도는 방사선의 조사방법, 조사량, 조사대상조직 등에 따라 다르며, 이러한 방사선의 생리를 이용하여 방사선이 치료의학에 이용된다.²⁹⁾

그러나 이들은 세포의 실활이나 변이 또는 악성전환등의 부작용을 야기할 수 있다.³⁰⁾ 특히 두경부에 발생한 악성종양의 치료방법으로 사용되는 방사선치료법은 외과적 절제술에 의해 야기될 수 있는 치명적인 기능장애나 심미적 손상을 피할 수 있는 장점을 갖는 반면에, 두경부 각 조직

에 영향을 미쳐 구강점막염, 점막하출혈, 궤양, 방사선궤사 등의 합병증을 유발시킬 수도 있다.^{4, 6, 7, 31)} 타액선등의 선조직은 세포주위 또는 세포내에 수분의 함량이 많이³²⁾ 방사선의 간접작용에 의해서도 큰 영향을 받으리라고 사료된다.

타액선은 방사선에 의해 효소변화를 일으키는 등 비교적 감수성이 높은 조직³³⁾으로서 타액선중 이하선이 방사선 감수성이 가장 높다.²³⁾ English(1955)³⁴⁾, Santangelo와 Toto(1965)²⁰⁾, Stern등(1976)³⁵⁾과 고(1988)²²⁾는 방사선조사에 의하여 타액선조직에서는 핵의 크기 및 형태변화, 선포의 위축 및 공포화, 선포내의 과립감소, 세포의 분절 및 세포내 구조의 붕괴 등이 나타난다고 하였고, 이러한 변화는 각 세포의 방사선에 대한 감수성에 따라서 다양하게 나타나는데, 이와같은 방사선감수성은 LD_{50/30}이 기준이 된다.³⁶⁾ Anderson등(1981)²⁹⁾은 타액선조직중 선포가 방사선조사에 가장 민감하고, 곡세관과 직세관은 중등도의 반응을 보이며, 엽외도관이 방사선에 가장 저항력이 크다고 하였으며 Sholley 등(1974)²⁴⁾, Ito(1967)³³⁾, Shafer(1952)³⁷⁾등도 이와같은 타액선조직의 방사선감수성을 보고한 바 있다.

방사선에 의한 선도관세포의 변화로서는 대체적으로 최(1988)²²⁾가 보고한 바와 같이 선도관세포의 위축 및 불규칙한 증식, 편평세포로의 화생, 염색도의 증가, 관강의 협소화 및 폐쇄, 핵막의 소실, 염색질의 이상배열, 사립체의 부종과 파괴, 분비과립의 파괴와 감소, 세포간극의 이개 등이 관찰되는데 Cherry와 Glucksman(1959)²⁶⁾이 3000R 이상의 조사군에서는 선세포가 변화를 일으킨 후, 이차적으로 윤관세포에서 증식성의 변화가 일어나고 선세포가 변성된 후에는 선도관세포가 입방형 내지 원주형에서 편평형으로 화생되었으며 관강은 이완되었다고 보고한 바 있다. 또한 Greenspan 등(1964)³⁸⁾은 방사선조사 4시간후에 엽내선도관이 변화되어 불규칙한 반점상으로 농염되었으며 거친 과립이 응집되었다고 보고하였으며, Phillips(1970)¹³⁾은 방사선조사 후 선도관조직이 4일째 가장 심한 변화를 보였고, 8~16일이 경과하여 회복되었다고 하였다. 이(1980)³⁹⁾도 15Gy 단회조사 후 이하선의 선도관이 1일째부터 배열이 불규칙해졌고 관강이 협소해졌으며, 7일째에는 더욱 심

화되어 편평세포로 화생되거나 위축, 파괴되고 관강을 인지할 수 없었으나 10일째부터는 재생되기 시작하였다고 보고하였다. 반면 Pindborg등(1954)⁴⁰⁾은 Swiss micc의 악하선에서 625R의 방사선을 조사하여 4일까지는 특별한 변화를 관찰할 수 없었으나, 그후 선포세포의 변화 및 선도관의 위축, 세포수의 감소가 일어났다고 서로 상이한 결과를 보고한 바도 있다. 이와같은 실험결과는 대체적으로 일정량의 방사선을 단회조사하여 관찰한 실험으로서, 조사방법을 달리한 분할조사시 조직에 미치는 영향은 서로 다르게 나타나리라고 추정된다.

분할조사와 단회조사시 나타나는 생물학적 효과의 차이점은 Reguad와 Ferroux(1927)⁴¹⁾에 의해서 그 이론적 근거가 제시된 후 Coutard(1932)⁴²⁾에 의해 분할조사가 임상에 처음으로 적용된 이래로 이 방법이 방사선치료에 주로 이용되고 있다. 분할조사를 사용하면 단회조사에 비해 과도한 합병증없이 효과적인 종양치료가 가능한데⁴³⁾, 이는 조사간격사이에서 종양세포의 재생소화(reoxygenation)⁴⁴⁾와 세포분열과정에서의 재분포화(re-distribution)⁴⁵⁾ 및 조직의 재군집화(repopulation)⁴⁶⁾가 일어나서 방사선의 효과가 증가되기 때문이다. 또한 조사간격사이에서 일어나는 준치사손상의 회복은 종양조직에 비해 정상조직에서 훨씬 잘 일어나므로 결과적으로 방사선치료 효율을 높여준다.⁴⁷⁾

본 실험에서는 최(1988)²²⁾가 15Gy의 방사선량을 단회조사하여 타액선 도관세포의 변화를 연구 보고한 것을 토대로 하고, 방사선치료에 널리 이용되는 분할조사법을 사용하였으며 분할조사시 준치사손상으로 부터 회복선량이 3Gy³⁹⁾라는 점을 감안하여 15Gy의 단회조사와 동등한 생체영향을 줄 수 있는 조사선량인 9Gy를 2회 분할조사하였다.

방사선조사에 의해 세포는 주로 핵막의 소실, 과립의 감소, 여러가지 세포내 소기관의 변화등이 초래되는데 BeumerⅢ와 Brady(1976)³⁰⁾는 세포질보다 핵이 방사선에 대해 100~1000배 정도의 감수성을 가지고 있어 방사선조사시 핵의 변화가 선행된다고 하였고, 그 변화되는 양상에 대해서는 Hugon과 Borgers(1968)⁴⁸⁾가 핵의 거대화, 핵막의 수포화, 염색질의 응집 및 특정 시약에 대한 친화

력의 변화 등이 있다고 보고한 바 있다. 이와 이 (1983)⁴⁹⁾가 백서 이하선에 12Gy, 20Gy의 방사선 조사시 1일후에 선편세포 핵이 팽창되었다고 보고하였고 박과 윤(1985)⁵⁰⁾은 백서 이하선에 3일 간격으로 12Gy를 2회, 24Gy를 4회 분할조사한 결과 핵의 형태변화가 3시간후부터 관찰되었다고 하였다. 선편세포의 핵의 변화에 대해서는 최(1988)²²⁾가 15Gy를 단회조사한 결과 1시간후부터는 핵막이 소실되기 시작하여 2시간후에 심하게 변성되었으며 3시간후부터는 핵이 농축, 농염되었고, 12시간후부터는 재생되었다고 보고하였는데 15Gy의 단회조사와 생물학적으로 같은 효과를 갖게하기 위한 9Gy를 2회 분할조사한 본 실험에서는 손상과 재생의 변화가 다소 지연되어 핵막의 소실이 방사선조사 후 2시간에서 부터 시작되어 6시간후에야 완전히 소실되었고 회복상도 12시간후에 핵함몰이 나타나는 등 미약하게 재생이 시작되었다.

세포점부의 세포막 인접부에 유막 또는 무막의 형태로 나타나는 분비과립은 방사선조사를 받아 소실되었다가 세포의 기능이 재생됨에 따라 재출현하게 되는데 이에 관해서 최(1988)²²⁾는 15Gy를 단회조사한 결과 3시간후에 소실되었고 6시간후부터 다시 재출현하며 전자밀도가 증가되었다고 보고한 반면, 본 실험에서는 소실되는 시간은 유사하였으나 7일 후에야 재출현되어 세포내 기관의 기능회복이 단회조사시에 비해 지연되었기 때문으로 추정된다. 이를 뒷받침해 줄 수 있는 세포내 소기관인 리보솜과 과립성 내형질망은 여러 학자들에 의해 연구보고된 바 있는데 선편세포를 실험대상으로 한 Hugon등(1965)⁵¹⁾은 방사선조사 후 1일에 리보솜의 감소를 보고하였고 Liu(1974)⁵²⁾는 2시간후에 과립성 내형질망의 확장 및 이로 부터의 리보솜의 분리를 보고한 바 있으며 Pratt와 Sodicoff(1972)⁵³⁾는 3시간후에 리보솜에서 생성된 단백질이 소멸되어 변형됨으로써 나타나는 희선형 내형질망을 보고하였다.

본 실험에서 방사선조사 후 선편세포에서는 희선형 내형질망등의 변화는 관찰되지 않았으나 최(1988)²²⁾는 단회조사후 1시간후에 과립성 내형질망으로 부터의 리보솜이 분리되었고 2시간후에는 심하게 변성되었다가 6시간후부터 세포질내에

유리리보솜의 형태로 점차 증가되었다고 한 바 있어, 본 실험에서 조사후 2시간후부터 유리리보솜이 감소되기 시작하였고 1일이 되어서야 다소 증가되었던 소견은 분비과립의 재출현뿐만 아니라 세포의 형태 및 기능의 회복이 단회조사에 비하여 분할조사시에 지연된다는 것을 시사해주는 것으로 사료된다. 그러나 본 실험에서 교소체의 변화는 방사선조사 후 2시간에 용해되었다가 12시간부터 뚜렷해지기 시작한다는 최(1988)²²⁾의 결과와 유사하였다. 이외에도 방사선조사 후 시간의 경과에 따라 일어나는 세포질의 변성으로 인해 입방, 원주형으로 부터 편평형으로 세포가 변형되고 회복된 후에 입방 내지 원주형으로 다시 환원되는 것은 본 실험의 결과에서도 관찰할 수 있었으며 이는 방사선 손상에 대한 세포의 활발한 대사작용의 결과인 것으로 사료된다.

선편세포로 부터 생성된 타액물질이 선편관을 따라 분비되는 과정에 타액이 선편관세포와 전해질교환등을 하므로, 관강내 물질과의 대사에 관계되는 미용도가 변화될 때 선편관세포에 미치는 영향은 방사선조사외에도 복합적으로 연구·구명되어야 할 것으로 생각된다.

V. 결론

본 연구의 목적은 방사선의 분할조사가 백서 타액선 선편관세포, 특히 이하선의 윤관세포에 미치는 영향을 구명하기 위함이다. 저자는 Co-60 심부치료장치로 백서의 두경부에 9Gy의 방사선량을 4시간 간격으로 2회조사한 후 1,2,3,6,12시간, 1,3,7일에 이들을 희생시켜 절편을 제작한 후 광학현미경과 전자현미경으로 검경하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 방사선 분할조사에 의해 이하선의 윤관세포는 3시간후에 변성되기 시작하여 6시간후에 가장 심하게 변성되었고, 12시간후부터 회복되기 시작하였다.
2. 전자현미경상에서 방사선 분할조사에 의한 영향으로 이하선의 윤관세포는 핵막, 미용도, 분비과립의 소실, 염색질의 이상배열, 세포질 변성, 세포내 기관의 위축 또는 감소등이 관찰되었다.
3. 광학현미경상에서 방사선 분할조사에 의한

영향으로 이하선의 윤관세포는 세포의 이상배열, 세포질 및 핵의 확장, 염색도의 증가, 세포의 증식 등이 관찰되었다.

REFERENCES

1. Gartner, L.P., Hiatt, J.L. and Provenza, D. V.: Effects of ionizing radiation on incisor development of the prenatal mouse. *Acta Anat.*, 98:367-375, 1977.
2. Carl, W. and Wood, R.: Effects of radiation on the developing dentition and supporting bone. *J.A.D.A.*, 101:640-648, 1980.
3. Koppang, H.S.: The radiosensitive stage of the rat incisor odontoblast as demonstrated by autography. *Scand. J. Dent. Res.*, 81:303-314, 1973.
4. Goepf, R.A. and Fitch, F.W.: Radiation effects on oral epithelium in mice. *J. Dent. Res.*, 48:641-645, 1969.
5. 최승규, 이상래: 방사선조사가 백서 협점막에 미치는 영향에 관한 전자현미경적 연구. *대한구강악안면방사선학회지*, 17:7-25, 1987.
6. Gowgiel, J.M.: Experimental radio-osteonecrosis of the jaws. *J. Dent. Res.*, 39:176-197, 1960.
7. Rankow, R.M. and Weissman, B.: Osteoradionecrosis of the mandible. *Ann. Otol.*, 80:603-611, 1971.
8. Ito, M.: Biologic effect of X-irradiation on salivary glands of mice. *Radiat. Res.*, 30:283-300, 1967.
9. Luzzatto, A.C., Prociuchiani, G. and Rosati, G.: Rat submaxillary gland; an electron microscopic study of the secretory granules of the acinus. *J. Ultrastructure Res.*, 22:185-194, 1968.
10. 日本アイソト-プ 協會: 核醫學入門, 丸善株式會社, pp.71-105, 1978.
11. Pizzarello, D.J. and Witcofski, R.L.: Basic radiation biology. 2nd ed., pp.20-29, Lea & Febiger, Philadelphia, 1975.
12. Fowler, J.F.: Dose-rate effect; some theoretical and practical considerations. *Brit. J. Radiol.*, 33:389-395, 1960.
13. Phillips, R.M.: X-ray induced changes in function and structure of the rat parotid gland. *J. Oral Surg.*, 28:432-437, 1970.
14. White, D.C.: The histopathologic basis for functional decrements in late radiation injury in diverse organs. *Cancer*, 37:1126-1143, 1976.
15. Withers, H.R. and Mason, K.A.: The kinetics of recovery in irradiated colonic mucosa of the mouse. *Cancer*, 34:896-903, 1974.
16. Brenk, V.D., Hurley, R.A., Gomez, C. and Richter, W.: Serum amylase as a measure of salivary gland radiation damage. *Br. J. Radiol.*, 42:688-700, 1969.
17. Elzay, R.P., Levitt, S.H. and Sweeny, W. T.: Histologic effect of fractionated doses of selectively applied megavoltage irradiation on the major glands of the Albino rat. *Radiology*, 93:146-152, 1969.
18. Names, J.L., Wheatcroft, M.G. and Leopold, R.S.: Effect of total body x-irradiation on salivary components of dogs. *J. Dent. Res.*, 31:603-608, 1952.
19. Bergonié, J. and Speder, E.: Sur quelques formes de reactions precoces apies des irradiation roentgen. *Arch. d'electric. Med.*, 19:241-245, 1911.
20. Santangelo, M.V. and Toto, P.D.: Radiation effects on mouse submandibular gland. *J. Dent. Res.*, 44:1291-1298, 1965.
21. 고 광준: 방사선조사가 백서 이하선의 선세포에 미치는 영향에 관한 전자현미경적 연구. *경희대학교 대학원 박사학위논문*, 1988.
22. 최 원재: 방사선조사가 타액선 도관세포에 미치는 영향에 관한 전자현미경적 연구. *경희대학교 대학원 석사학위논문*, 1988.
23. Anderson, M.W., Izutsu, K.T. and Rice, J.C.: Parotid gland pathophysiology after

- mixed gamma and neutron irradiation of cancer patients. *Oral Surg.*, 52:495-500, 1981.
24. Sholley, M.M., Sodicoff, M. and Pratt, N. E.: Early radiation injury in the rat parotid gland; reaction of acinar cells and vascular endothelium. *Lab. Inv.*, 31:340-354, 1974.
 25. Riva, A., Testa-Riva, F. and Fiacco, M.D., et al.: Fine structure and cytochemistry of the intralobular ducts of the human parotid gland. *J. Anat.*, 122:627-640, 1976.
 26. Cherry, C.P. and Glucksman, A.: Injury and repair following irradiation of salivary glands in male rats. *Brit. J. Radiol.*, 32:596-698, 1959.
 27. Pratt, N.E. and Sodicoff, M.: Ultrastructural injury following x-irradiation of rat parotid glandular acinar cells. *Arch. Oral Biol.*, 17: 1177-1186, 1972.
 28. Alexander, P. and Bacq, Z.M.: The nature of the initial radiation damage at the sub-cellular level; in the initial effects of ionizing radiations on cells. pp.319. London and New York, Academic Press, 1961.
 29. Blozis, G.G. and Robinson, J.E.: Oral tissue changes caused by radiation therapy and their management. *Dent. Clin. North Am.*, 12 : 643-656, 1968.
 30. Fry, R.J.N. and Ainsworth, E.J.: Radiation injury; some aspects of the oncogenic effects. *Fed. Proc.*, 36:1703, 1977.
 31. Beumer, III, J. and Brady, F.A.: Dental management of the irradiated patient. *Int. J. Oral Surg.*, 7:208-220, 1978.
 32. Ten Cate, A.R.: Oral histology; development, structure and function. 2nd ed., pp. 303-331, The C.V. Mosby Co., 1985.
 33. Ito, M.: Biological effect of x-irradiation on salivary glands of mice. *Radiat. Res.*, 30:283-300, 1967.
 34. English, J.A.: Morphologic effects of irradiation on the salivary glands of rats. *J. Dent. Res.*, 34:4-11, 1955.
 35. Stern, M.H., Turner, J.E. and Jelt, L.S. et al.: Electron microscopic changes in rat parotid and submandibular glands subsequent to total body irradiation with fast neutrons. *Oral Surg.*, 42:620-630, 1976.
 36. 北皇隆, 森田皓三: 放射線生物學, 第2版, pp.72-77, 通商産業研究社, 1977.
 37. Shafer, W.G.: The effect of selective x-ray irradiation on the histologic structure of the rat salivary glands. *J. Dent. Res.*, 31: 486-487, 1952.
 38. Greenspan, J.S., Melamed, M.R. and Pearse, A.G.E.: Early histochemical changes in irradiated salivary glands and lymph nodes of the rat. *J. Pathol. Bacteriol.*, 88:439-453, 1964.
 39. 이 의웅: 방사선조사가 백서 타액선 조직에 미치는 영향에 관한 실험적 연구. 대한치과 의사협회지, 18:657-667, 1980.
 40. Pindborg, J.J., English, J.A. and Boyle, P.E.: The effect of 625R, 2000kVp, total body x-irradiation upon the salivary glands in Swiss mice. *J. Dent. Res.*, 33:715, 1954.
 41. Regaud, C. and Ferroux, R.: Discordance des effets des rayons X, d'une part dans la peau, d'autre part dans le testicule par le fractionnement de la dose: diminution de l'efficacite dans la peau, maintien de l'efficacite dans le testicule. *Compt. Rend. Soc. Biol.*, 97:431-434, 1927.
 42. Coutard, H.: Roentgen therapy of epitheliomas of the tonsillar region, hypopharynx and larynx from 1920 to 1926. *Am. J. Roentgenol.*, 28:313-331, 1932.
 43. Devita Jr., V.T., Hellman, S. and Rosenberg, S.A.: Cancer; principles and practice of oncology, 1:249, J.B. Lippincott Co., Phi-

adelphia, 1985.

44. Kallman, R.F.: The phenomenon of reoxygenation and its implications for fractionated radiotherapy. *Radiology*, 105:135-142, 1972.
45. Fletcher, G.H.: Textbook of radiotherapy. pp.122-123, Lea & Febiger, Philadelphia, 1980.
46. Withers, H.R.: Recovery and repopulation in vivo by mouse skin epithelial cells during fractionated irradiation. *Radiation Res.*, 32: 227-239, 1967.
47. Elkind, M.M., Swain R.W. and Alescio T, et al: Radiobiology in radiotherapy. *Int. J. Rad. Oncol. Biol. Phys.*, 10:1143-1148, 1984.
48. Hugon, J. and Borgers, M.: Fine structure of the nuclei of the duodenal crypt cells after x-irradiation. *Am. J. Pathol.*, 52:701-723, 1968.
49. 이 건주, 이 상철: Co-60 방사선조사가 백서 악하선에 미치는 영향에 관한 전자현미경적 연구. *경희치대논문집*, 5:33-44, 1983.
50. 박 창서, 윤 중호: Cobalt-60 방사선조사가 백서의 타액선에 미치는 영향에 관한 전자현미경적 연구. *대한악안면방사선학회지*, 15:27-40, 1985.
51. Hugon, J., Maisin, J.R. and Borgers, M.: Changes in ultrastructure of duodenal crypts in x-irradiated mice. *Radiat. Res.*, 25:489-502, 1965.
52. Liu, H.M.: The early effect of x-irradiation on lip mucosa of rat. *Electron microscopy and stereology*. University of Illinois, Ph. D. Thesis. 1974.
53. Pratt, N.E. and Sodicoff, M.: Ultrastructural injury following x-irradiation of rat parotid glandular acinar cells. *Arch. Oral Biol.*, 17: 1177-1186, 1972.

ELECTRON MICROSCOPIC STUDY OF THE SPLIT IRRADIATION EFFECTS ON THE RAT PAROTID DUCTAL CELLS

Sung Soo Kim, D.M.D., Sang Rae Lee, D.D.S., M.S.D., Ph. D.

*Department of Dental Radiology, College of Dentistry,
Kyung Hee University.*

This study was designed to investigate the effects of split irradiation on the salivary ductal cells, especially on the intercalated cells of the rat parotid glands. For this study, 24 Sprague-Dawley strain rats were irradiated on the head and neck region with two equal split doses of 9 Gy for a 4 hours interval by Co-60 teletherapy unit, Picker's model 4M 60. The conditions of irradiation were that field size, dose rate, SSD and depth were $12 \times 5\text{cm}$, 222 cGy / min, 50cm and 1cm, respectively. The experimental animals were sacrificed 1, 2, 3, 6, 12, hours and 1, 3, 7, days after the irradiation and the changes of the irradiated intercalated cells of the parotid glands were examined under light and electron microscope.

The results were as follows:

1. By the split irradiation, the degenerative changes of intercalated cells of the parotid glands appeared at 3 hours after irradiation and the most severe cellular degeneration observed at 6 hours after irradiation. The repair processes began from 12 hours after irradiation and have matured progressively.
2. Under electron microscope, loss of nuclear membrane, microvilli and secretory granules, derrangement of chromosomes, degeneration of cytoplasm, atrophy or reduction of intracytoplasmic organelles were observed in the intercalated ductal cells after split irradiation.
3. Under light microscope, derrangement of ductal cells, widening of cytoplasm and nuclei, hyperchromatism and proliferation of ductal cells were observed in intercalated ducts after split irradiation.

EXPLANATION OF FIGURES

Light Microscopic Figures

- Fig. 1.** Photomicrograph shows irregularly atrophied nucleus and cytoplasm.
(1 hour after the irradiation, Toluidine blue stain, X 200)
- Fig. 2.** Photomicrograph shows heavily stained irregular nucleus. The amount of cytoplasm is more or less increased, but the arrangement of the duct cells is become irregular.
(2 hours after the irradiation, Toluidine blue stain, X 200)
- Fig. 3.** Photomicrograph shows the enlarged, round and heavily stained nucleus. The cells are changed to cuboidal shape due to increase of the amount of cytoplasm.
(3 hours after the irradiation, Toluidine blue stain, X 200)
- Fig. 4.** Photomicrograph shows the severely degenerated nucleus and cytoplasm. The ductal cells are separated from the adjacent connective tissue.
(6 hours after the irradiation, Toluidine blue stain, X 200)
- Fig. 5.** Photomicrograph shows the variously sized nucleus distinguishable from the cytoplasm. Duct cells are arranged to 1-2 layers with the association with the adjacent connective tissue.
(12 hours after the irradiation, Toluidine blue stain, X 200)
- Fig. 6.** Photomicrograph shows the simple layered tall columnar cells with centrally placed nucleus.
(1 days after the irradiation, Toluidine blue stain, X 200)
- Fig. 7.** Photomicrograph shows the simple layered low columnar duct cells.
(3 days after the irradiation, Toluidine blue stain, X 200)
- Fig. 8.** Photomicrograph shows the almostly recovered duct cells.
(3 days after the irradiation, Toluidine blue stain, X 200)

Electromicroscopic Figures

rER: rough endoplasmic reticulum

SG: secretory granule

D: desmosome

H: heterochromatin

IS: intercellular space

M: mitochondria

fR: free ribosome

AUP: autophagosome

N: nucleus

NM: nuclear membrane

MV: microvilli

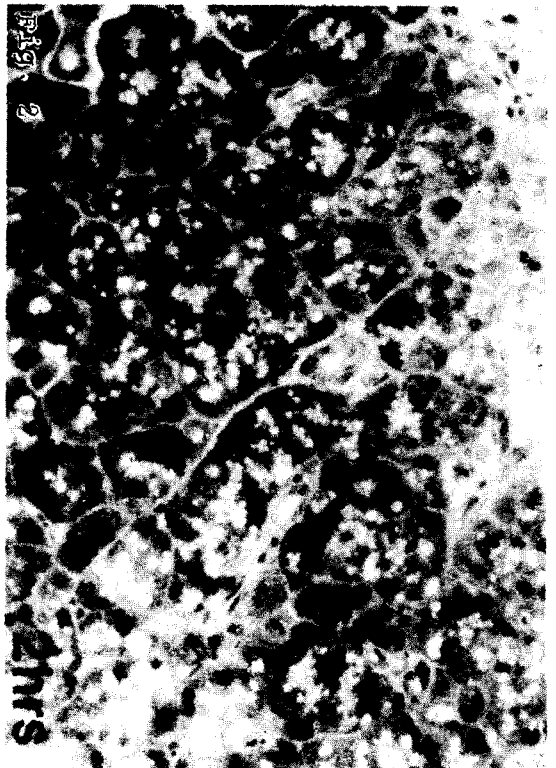
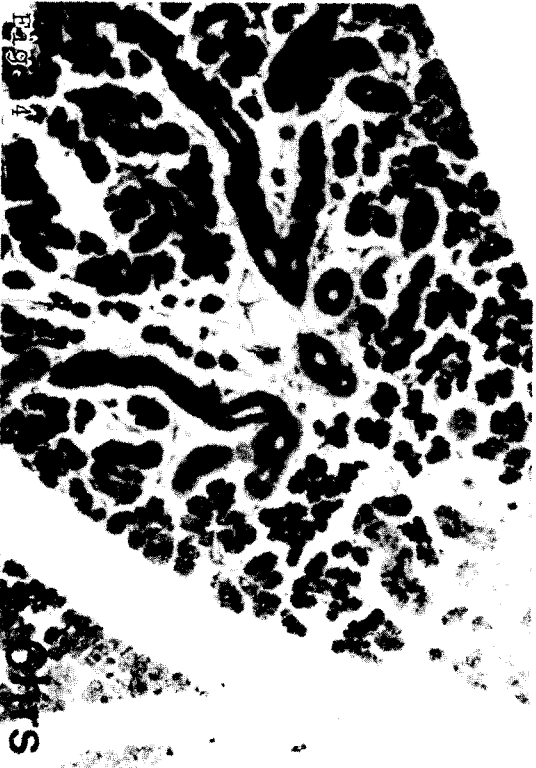
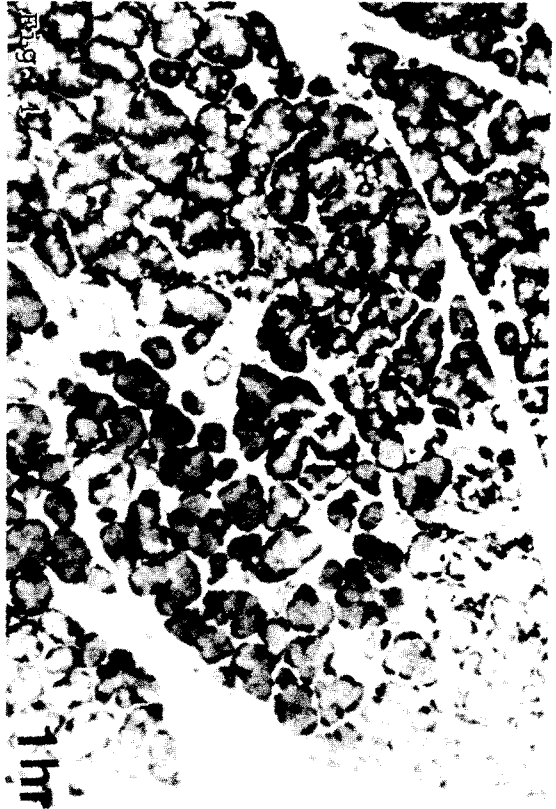
C: chromatin

DB: dense body

- Fig. 9.** Electron microscope shows the distinct nuclear membrane, and much microvilli at the apical plasma membrane. Many free ribosomes and well-developed rough endoplasmic reticulum are observed in the cytoplasm. The desmosomes are also finely observed.
(1 hours after the irradiation: X 12,000)

- Fig.10.** Electron microscope shows partially indistinct nuclear membrane. The apical plasma membrane has much microvilli, and various sizes of secretory granules are observed. Free ribosome and the tonofilaments of the desmosomes are mildly decreased in number within the cytoplasm. (2 hours after the irradiation; X 12,000)
- Fig.11.** Electron microscope shows the indistinct border between the nucleus and the cytoplasm. The numbers of microvilli are markedly decreased, partially clumped and become to be vague. The free ribosome and attached ribosomes are decreased, and the autophagosomes are also observed within the cytoplasm. (3 hours after the irradiation; X 12,000)
- Fig.12.** Electron microscope shows the loss of nuclear membrane and diffusely distributed chromatin. Small granular electron-dense bodies are scattered throughout the cytoplasm and the karyoplasm. Cytoplasmic organelles are difficult to be identified due to severe degeneration and the desmosomes are also become structureless. (6 hours after the irradiation; X 12,000)
- Fig.13.** Electron microscope shows the partially regenerated nuclear membrane. The nuclear indentation are observed with the heterochromatin lined along the periphery. Basally placed duct cell is devitalized, and degenerated substances surround the nucleus. The cell, placed toward the lumen, is being regenerated with various sized mitochondria, a few numbers of free ribosomes and immature rough endoplasmic reticulum. (12 hours after the irradiation; X 12,000)
- Fig.14.** Electron microscope shows generally observed nuclear membrane. Cytoplasmic free ribosomes and rough endoplasmic reticulum are increased, and the desmsomes are also increased and more and more developed. (1 days after the irradiation; X 12,000)
- Fig.15.** Electron microscope shows the distinctively regenerated nuclear membrane. The apical microvilli are become to be projected, and electron-dense mitochondria are appeared peripheral to the nucleus. (3 days after the irradiation; X 12,000)
- Fig.16.** Electron microscope shows well developed microvilli and newly appeared secretory granules. In the cytoplasm, the mitochondria with fine cristae and well-developed rough endoplasmic reticulum are observed. (7 days after the irradiation; X 12,000)

사 진 부 도 田



사 진 부 도 ②

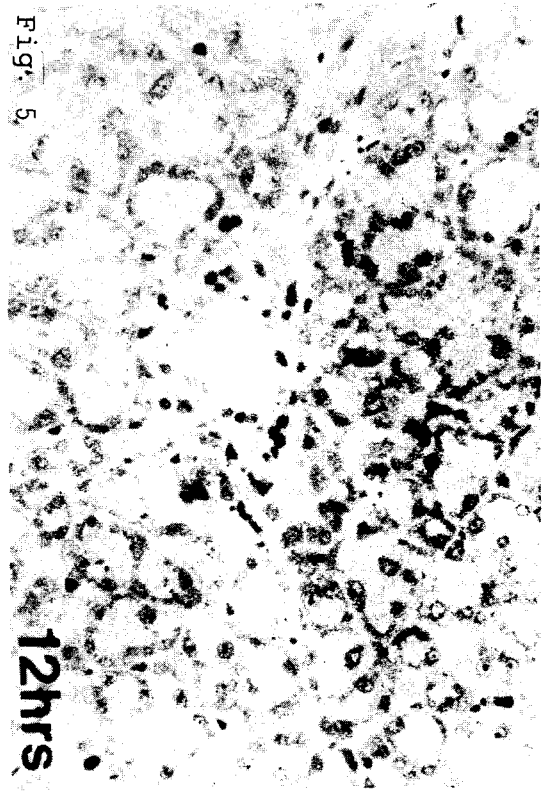


Fig. 5.

12hrs

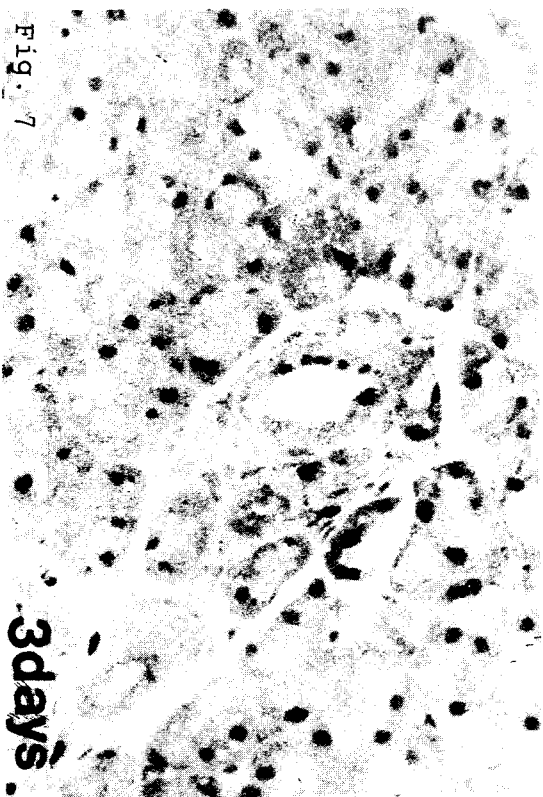


Fig. 7.

3days

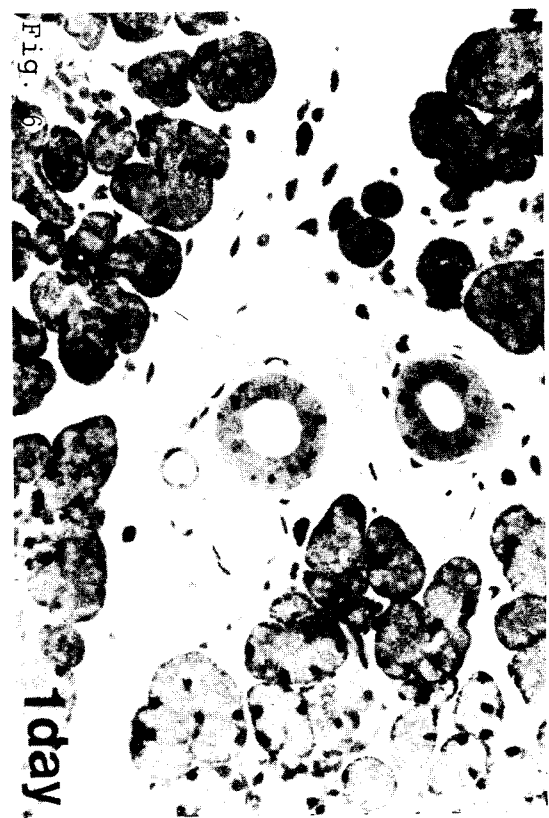


Fig. 6.

1day

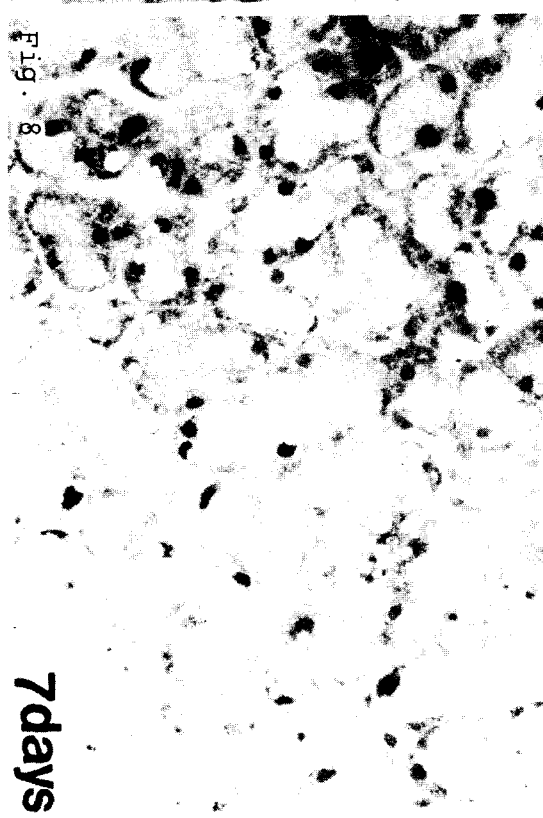


Fig. 8.

7days

사 진 부 도 ③

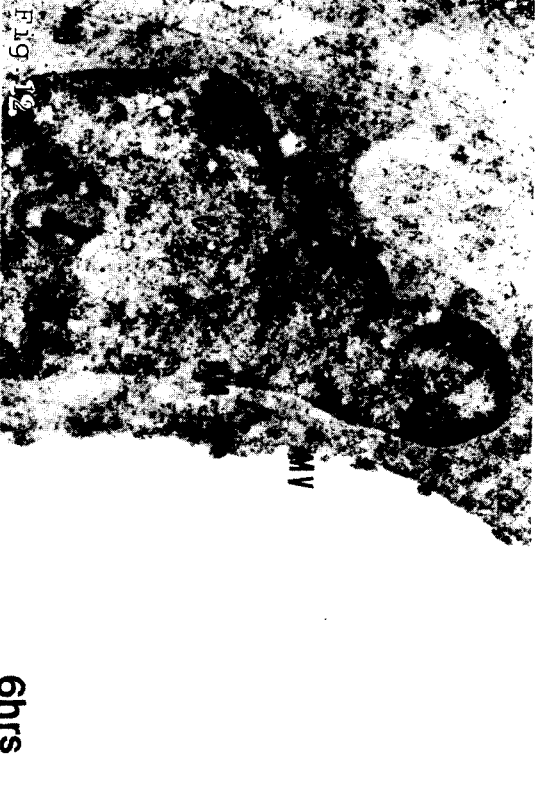


Fig. 11

3hrs

Fig. 9

1hr

Fig. 10

2hrs

Fig. 12

6hrs

사 진 부 도 ②

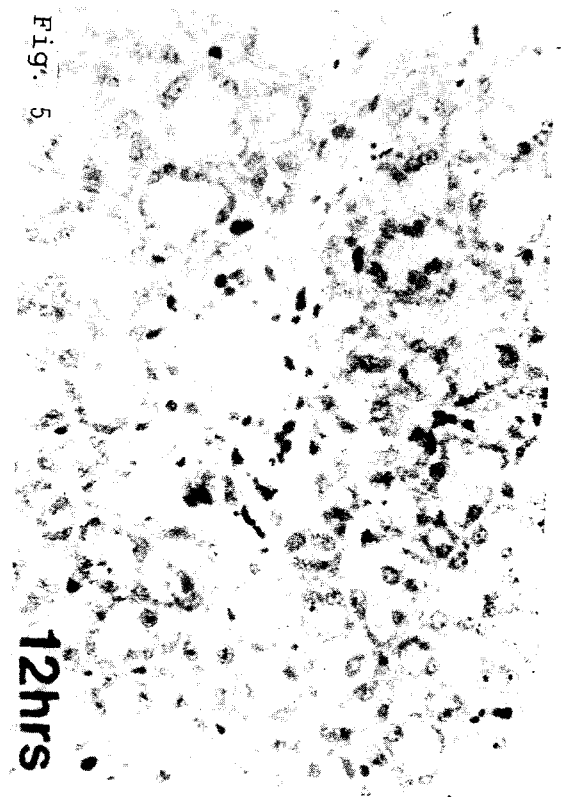


Fig. 5.

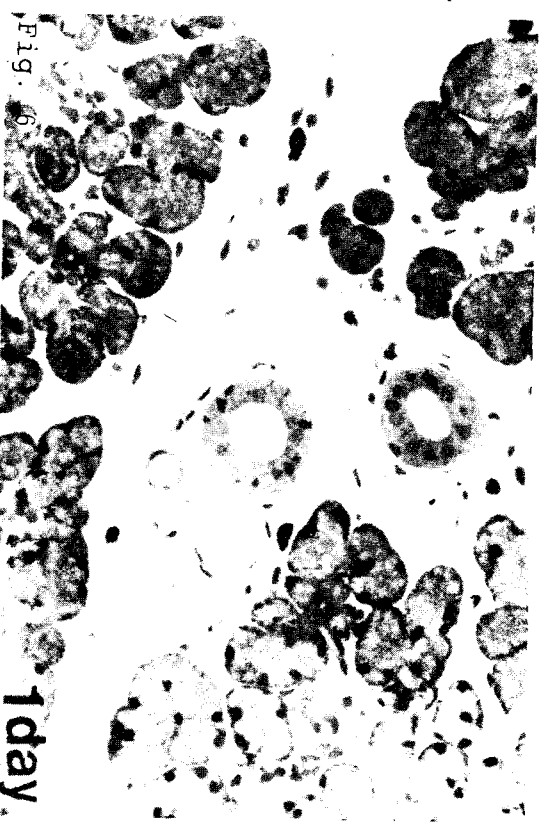


Fig. 6.

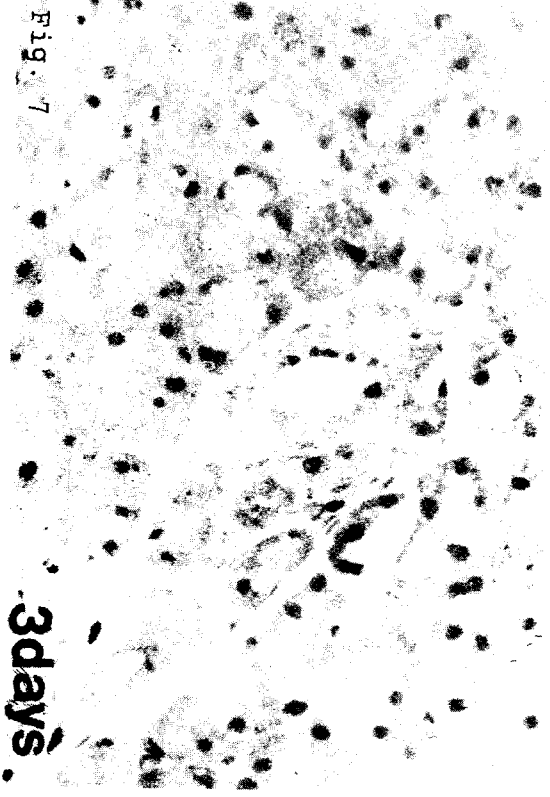


Fig. 7.



Fig. 8.

7days