-대한 구강 악안면방사선학회지 : Vol.21, No.2, 1991-

Hydrocortisone, Elcatonin 및 Cyclophosphamide의 과량투여시 하악과두의 골변화에 관한 연구

경희대학교 치과대학 치과방사선학교실

신 동 진 · 이 상 래

목 차

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

Ⅰ. 서 론

류마티스성 질환이나 장기이식술등에 사용되고 있는 glucocorticoid, 골결핍증의 치료제로서 이용되는 calcitonin, 항암제인 cyclophosphamide의 치료용량(therapeutic dose)에서의 효과의 발현기전 및 임상응용에 대하여서는 선학들의 활발한 연구업적들[1-3]이 있다. glucocorticoid는 Suda등[4]과 Liskova-Kiar[5]등에 의해서, calcitonin은 Chamber와 Magnus[6]등에 의해서, cyclophosphamide는 Norbury와 Allen[7]등에 의해서, 이들 약제들을 치료용량 이상으로 투여하면 파골작용이 억제되고, 골간단(metaphyseal bone)의 성장이 증가된다[8]고 보고되었으며, Nakamura와 Kanda[9]는 이들 약제들이 각각 다른 기전에 의하여 하악과두의 골경화증을 일으킨다고 보고한 바 있어 치과임상에서도 이들 약제는 관심의 대상이 되고 있다.

부신피질의 속상대(zona fasciculata)에서 주로 cortisone과 hydrocortisone의 형태로 분비되어 지방질, 당질과 전해질의 대사, 성호르몬등으로서 작용을 하는 glucocorticoid는 부신기능부전증, 알레르기질환 및 천식, 신생물 억제등의 치료제로서 이용되고 있는데[1,10,11], glucocorticoid를 장기간 투여하면 골성장의 억제[12]와 골조직 손실 또는 골결핍증[13]이 자주 유발된다. glucocorticoid의 골조직에 대한 작용기전은 불분명한 점이 많으나, Chen과 Feldman[14], Reid등[15]은 파골세포의 수적 증가 및 이의 활성화, Hahn등[16]과 Wong등[17]은 조골세포의 기능억제의 결과로서 골이 흡수되는 직접작용을 구명하였으며, Fucik등[18]과 Jee등[19]은 부갑상선호르몬의 분비, Kimberg 등[20]은 장관에서의 칼슘흡수억제등의 간접작용에 의하여 골이 흡수된다고 하였다.

glucocorticoid의 투여량과 투여기간에 따른 골조직의 변화상은 다양하다고 알려져 있다. Jee등[19]은 저용량(low dose)의 cortisol을 투여하면 골손실이 유발되지만 과용량(high dose)을 투여하면 골의 흡수가 억제된다고 하였으며 이러한 결과는 Robert[21]와 Kenner[22]에 의해서도 보고된 바 있다. 또한 Liskova

-kiar[5], Suda등[4]과 Tobias와 Chamber등[23]도 조직배양 실험을 통하여 glucocorticoid가 파골세포에 의한 골흡수를 억제한다고 하였다. 따라서 이의 투여량과 투여기간에 따라 골조직에서는 상이한 결과들이 초래되는 것 같다.

한편 calcitonin은 부갑상선호르몬과 비타민 D와 더불어 중요한 칼슘조절인자[2]로서 이 호르몬에 관하여 많은 연구들이 이루어지고 있다. calcitonin은 포유류 갑상선의 C세포뿐만 아니라, 어류, 조류 및 양서류의 외측갑상선에서도 분비되며[24-26] 골조직과 신장에 작용하여 저칼슘혈증화와 저인산염혈증화를 일으키는데[23-25] Warshawsky 등[27]은 자기방사법을 이용한 연구에서 calcitonin이 파골세포에 주로 작용하여 골흡수를 억제한다고 하였으며, Chamber와 Magnus[6], Chamber등[28]은 조직배양실험을 통하여 Warshawsky등[27]의 주장을 입증하였다.

Dokoh등[29]과 Farley등[30]은 calcitonin이 조골세포의 분열 및 교원질합성을 촉진하여 골형성효과를 나타낸다고 하였으며, Mark등[31]은 calcitonin이 신장에서 칼슘의 흡수를 억제하여 이의 동태를 조절한다고 보고한 바 있다. calcitonin의 이러한 작용을 이용하여 Paget병[29], 과칼슘혈증[32], 골송조증[33-39]등의 치료에 이 호르몬이 이용되고 있다. 한편 Glajchen등[40]과 Indech와 Jowsey[25]는 과용량의 calcitonin을 투여하면 calcitonin이 골흡수에 관여된다고 한 바 있어 calcitonin의 투여량에 따른 골조직변화에는 상반된 견해들이 있으나 calcitonin이 파골세포에 작용하여 골흡수를 억제한다는 학설이 많은 지지를 받고 있는 듯하다.

cyclophosphamide는 nitrogen mustard계의 알킬(alkyl)화제제로서 세포에서 DNA합성을 억제[41,42]하는 약리작용을 발현시키므로 항암제로서 널리 이용되고 있다. 이는 정상조직에도 세포독작용을 야기하는데 이러한 세포독작용은 세포의 분열증식능이 활발한 조직에서 현저하므로[43] cyclophosphamide가 골수의 조혈기능도 억제한다고[44,45] 보고되고 있다.

Winkelstein[46]과 Parrott등[47]은 세포면역학적 방법을 통하여, Aisenberg[48]와 Paterson등[49]은 방사성동위원소를 이용한 면역화학적 방법을 통하여 cyclophosphamide가 임파조직에서도 세포분열을 방해하고 임파구를 파괴하여 면역억제효과를 나타낸다고 하였다.

한편 cyclophosphamide가 골조직에 미치는 영향에 대하여, 최[50]는 치료용량을 투여한 연구에서 발치창의 결체조직 및 골조직의 치유과정이 지연됨을, 김[51]은 치료용량에서 골절치유부위의 결체조직 및 신생골이 매우 적게 형성된다고 보고하였으며, Nobury와 Allen등[7]은 과용량의 cyclophosphamide 투여시 골화석증이 발생된다고 보고한 바 있으나 cyclophosphamide가 골조직에 미치는 영향에 관한 작용기전등은 아직 명확히 구명되지 못한 실정이라고 사료된다. glucocorticoid, calcitonin 및 cyclophosphamide의 투여가 골조직에 미치는 영향을 평가하는데에는 조직병리학적 방법, 생화학적 방법, 방사선학적 방법[52,53] 등이 있으나, X선사진을 이용한 골의 밀도 및 양적 변화와 형태의 변화를 관찰하는 것이 가장 보편적인 연구방법으로 알려져 있다. 골밀도를 정량적으로 측정하는데에는 single photon absorptiometry, dual photon absorptiometry, quantitative computed tomography등[54,55]이 이용되고 있으나 이들은 골량(bone mass)의 정량분석에는 정밀도가 높으나 골의 형태나 구조의 변화는 동시에 관찰할 수 없는 단점이 있다[56]. Inoue등[57]은 microdensitometer를 이용하여 골밀도를 측정하였으며, Anderson 등[58]과 Smith 등[59]은 photodensitometer를 이용하여 X선사진에서의 골밀도를 측정하였는데 이 방법은 재현성이 우수하여 육안적 평가방법에 비하여 객관성이 높으나 연조직의 변화등에 민감하므로 계측시에 기술적인 문제점들[60]이 따른다.

최근에는 X선사진을 이용한 골밀도 측정방법으로 컴퓨터를 이용하여 정밀도가 높고 비교적 조작이 간편한 방법들이 이용되고 있다. Mallon과 Mellberg등[61]은 치아경조직의 무기물의 정량분석시 microdensitomer에 컴퓨터를 이용하였고, Yonekura등[62]은 자기방사법에서

방사의약품의 약용량 측정이나 약물의 대사연구에 videodensitometry system에 microcomputer를 이용하였다. Strid와 Kälebo[63], Kälebo와 Strid[64]등은 videodensitometry에 컴퓨터를 이용하여 연X선사진상에서 골량을 측정하였는데 대조물질로 사용된 aluminum이 골조직의 회분중량 및 건조중량과 아주 높은 비례관계가 있다고 하였다. 따라서 본 연구에서도 이 방법을 이용하여 약제에 따른 골밀도를 측정하였다.

이상에서 살펴본 바와 같이 glucocorticoid, calcitonin, cyclophosphamide의 투여용량과 기간에 따른 골조직에서의 변화 양상은 다양한 것으로 연구 보고되고 있으며, 최근에는 이들 약제를 과용량 투여 할 경우, 골경화증이 유발된다고 알려져 있으므로 이의 발현기전에 관한 연구도 활발히 이루어지고 있다. 그러나 이들 약제에 대한 선학들의 연구는 골량의 측정에 관한 것들이 많으므로, 저자는 이들 약제들의 과용량 투여시에 골조직에서 일어나는 형태와 구조의 변화를 구명하고자 glucocorticoid, calcitonin, cyclophosphamide의 투여량과 투여기간에 따른 육안 및 골밀도를 평가하였으며 또한 골조직에서의 변화 양상을 조직병리학적으로 관찰하였다.

II. 연구재료 및 방법

1. 연구재료.

3주령의 Sprague-Dawley계통의 무병원균(SPF)백서 100마리를 1주일간 실험실내에서 순화시킨 후, 이중 건강한 동물 60마리를 실험동물로 채택하였는데 이들의 평균체중은 107 gm이었다. 사료는 실험동물용 고형사료를 방사선조사(2×10^{-5} Gy)로 멸균하여 자유섭취시켰으며, 상수도물을 자외선유수살균기로 소독한 후 자유섭취 하도록 하였다. 또한 모든 실험기자재 및 실험자 착용물도 멸균소독후 사용하였으며 실험은 온도, 습도, 환기, 조명시간 및 조도를 일정하게 조절한 동물실에서 실시하였다. 이들 실험동물을 대조군과 hydrocortisone 투여군, elcatonin 투여군, cyclophosphamide투여군에 각각 15마리씩 배정하였다.

2. 연구방법

1) 약물투여

대조군에는 0.9% 생리식염수를 매일 체중 kg당 5ml씩 경배부에 피하주사하였다. 실험군에는 glucocorticoid로서 hydrocortisone (Sigma Co., U.S.A.)을 매일 체중 kg당 30 mg씩, calcitonin으로는 elcatonin(Toyo Co., Japan)을 매일 체중 kg당 20U씩을 경배부에 피하주사하여 hydrocortisone투여군과 elcatonin투여군으로 하였으며, cyclophosphamide(Sigma Co., U.S.A.)투여군에는 체중 kg당 100mg을 실험 제1일에 제대우측부에 복강내 단회 주사하였다. hydrocortisone과 elcatonin은 용매인 0.9%생리식염수에 희석시켜 조제후 냉장보관하여 사용하였고 cyclophosphamide는 사용직전 0.9%생리식염수에 희석시켜 조제하여 투여하였으며 주사 직전 실험동물의 체중을 측정하여 이를 기준으로 투여용량을 산출하였다.

실험동물은 실험 각군 공히 실험 6일, 15일, 22일째에 5마리씩 희생시켜서 양측 하악골을 적출하였으며, 하악골의 좌우측을 분리한 후 한쪽은 10% 중성 formalin에 48시간 고정후 연X선촬영기(Hitex HA-80, Hitex Co., Japan)로 X선사진을 촬영하였고 반대측의 하악골은 48시간 10% 중성 formalin에 고정후 7.5%질산용액으로 약 48시간 탈회시켰으며 5% sodium sulfate용액에 24시간 방치하였다. 그후 통법에 따라 paraffin 포매하고 6μm 두께의 연속절편을 만들어 hematoxylin-eosin 중염색하여 골조직의 변화상을 관찰하였다.

2) 연X선사진촬영 및 현상

하악골들을 X선 필름카세트위에 aluminum step wedge(길이 20mm, 폭 5mm, 각 step 크기는 2mm×5mm, 두께는 최소 0.288mm에서 최고 2.88mm의 10단계)와 함께 놓고 연X

선 촬영장치를 이용하여 X선사진촬영(촬영조건 : 40kVp, 2.5mA, 0.2mm Al filtration, X선조사시간 : 20초)을 하였다. 촬영된 X선필름은 20°C에서 Rendol(Fuji Co., Japan)로 4분간 현상하였으며 Ren-Fix(Fuji Co., Japan)로 5분간 정착하였다.

3) Video Based Digital Radiography

컴퓨터 및 주변장치는 40Mbytes의 hard disk, 1Mbyte의 RAM(random access memory), 흑백 monitor SM430(Samsung Electric Devices, Korea)와 천연색 monitor MultiSync 3D(NEC, Japan), HGC(hercules graphic card), 1024 colors와 64 gray scale level을 지원하는 VGA color graphics board 등이 내장된 IBM PC-AT호환 기종이었다.

현상된 X선 사진을 판독대 model 67-0242 (Rinn Co., U.S.A.)를 광원으로, 표준 NTSC방식의 video camera PV-520 D (Panasonic Co., Japan)로 촬영하였는데 산란광의 발생을 최소한으로 줄이기 위하여 모든 광원을 차단한 암실내에서 판독대를 빛이 투과되지 못하는 film mounter와 흑색종이로서 X선사진이 위치되는 부위를 제외한 모든 부위의 광선을 차단하고, video camera 촬영시는 lens hood를 이용하였다. 판독대, X선사진, video camera의 위치변화를 방지하기 위하여 film mounter를 판독대에 접착하고, 삼각대로 video camera를 고정하였다. video camera의 macro기능을 이용하여 X선사진을 접사촬영하였고, 이 video 영상을 512×512의 공간해상력과 256단계의 gray scale level을 갖는 low cost frame grabber DT 2853(DATA Translation Co., U.S.A.)과 이를 지원하는 프로그램 IRIStutor Vol.04를 이용하여 X선사진 1매당 262656 bytes의 디지탈 신호로 전환하여 이를 hard disk에 저장하였다.

X선사진의 digitization시에는 video camera의 영상출력단자와 천연색 monitor를 DT 2853과 연결하였는데 천연색 monitor는 video 영상의 초점조절과 관찰 등에 이용하였다. 저장된 X선 사진의 디지탈 신호의 영상적 재구성과 이의 판독, 관심영역의 상대적 흑화도 측정에는 C언어로 작성된 프로그램 AYK/ITJ를 이용하였는데 이 때에는 X선사진의 digitization시에 부착되었던 HGC와 DT 2853 Board를 컴퓨터 본체에서 제거하고 VGA board와 천연색 monitor를 사용하였다. 흑화도는 화도의 gray scale level이 완전히 검은 것은 0, 흰 것은 255로 정의하여 흑화도를 0에서 255사이의 256단계의 숫자로 나타내도록 하였다.

4) 디지탈 영상의 흑화도 측정 및 aluminum 등가치환산

하악과두부중에서 하악과두와 하악과두경을 대상으로(Figure 1) 정사각형의 관심영역을 작성하여 동 부위와 aluminum step wedge의 각 단계의 흑화도의 256gray scale level을 각각 측정하였으며 step wedge의 각 step마다의 흑화도와 비교하여 Duinkerke등[65,66]에 의해 고안된 방정식에 의하여 mm로 나타내는 aluminum 등가치로 환산하였다.

$$D=\frac{(InDR)^2-a}{b}\text{mm Al eq.}$$

D : mm단위로 나타낸 aluminum등가치
DR : 흑화도의 gray scale level
a, b : 통상의 최소자승법(method of least square)에 의한 계수

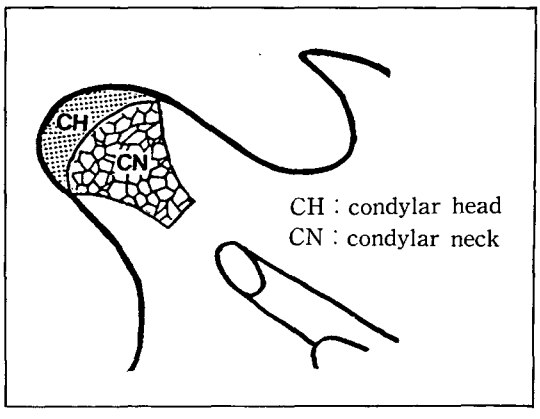


Figure 1. subdivision of the mandibular condyle.

III. 연구성적

1. 연X선사진의 분석·평가

1) 연X선사진의 육안적 관찰

실험 기간이 경과됨에 따라 하악과두부의 형태가 대조군에 비하여 장타원형을 이루는 경향이 있었으며 골경화양상이 관찰 부위에 따라 다소의 차이를 보이면서 판독되었다.

hydrocortisone투여군은 실험 전 기간에 걸쳐서 골소주가 비교적 균일하게 치밀하여지는 골경화상을 보였으며 특히 실험 15일군과 22일군에서는 하악과두부에서 골경화대가 현저히 증가되는 소견이 관찰되었다(Figure 3).

elcatonin투여군도 실험 전 기간에서 골소주가 불규칙하지만 이의 수는 증가되는 경향이 관찰되었다. 실험 15일군과 22일군에서는 하악과두의 변연부에 주기적으로 선문이 형성된 상이 판독되었는데 선문 형성의 정도는 실험 22일군에서 현저하였다(Figure 4). 한편 cyclophosphamide투여군은 실험 15일군과 22일군에서 불규칙한 골소주의 배열상이 보였으며 실험 22일군에서는 하악과두부에서 점상의 X선불투과상들이 관찰되었다(Figure 5).

2) 연X선사진을 이용한 골밀도의 산출

본 연구에서 골밀도 측정치의 검정은 SAS (Statistical Analysis System)통계프로그램이 이용되었는데 하악과두의 골밀도가 하악과두경의 것에 비하여 컸으며 실험기간의 경과에 따라 변화가 심하였다.

(1) 하악과두의 골밀도의 변화

실험 기간에서 hydrocortisone투여군은 대조군에 비하여 골밀도가 증가되었으며 특히 실험 15일군에서는 현저한 증가 성적을 보였다. elcatonin투여군에서는 실험 6일군은 대조군에 비하여 골밀도가 근소하게 증가되는 경향을 보였으나 실험 15일군과 22일군은 골밀도가 대조군에 비하여 감소되었다. 한편 cyclophosphamide 투여군은 실험 6일군과 15일군에서는 대조군과의 골밀도 차이가 없었으나 실험 22일군에서는 대조군에 비하여 골밀도가 감소되었다(Table 1).

(2) 하악과두경의 골밀도의 변화

hydrocortisone투여군의 실험 6일군에서는 대조군에 비하여 골밀도가 증가되었으나 hydrocortisone투여군의 실험 15일군, 22일군, elcatonin과 cyclophosphamide 투여군의 실험 6일군, 15일군, 22일군 모두에서 대조군에 비하여 골밀도가 근소하게 증가되었으나 통계적인 유의차는 없었다(Table 2).

2. 병리조직적 관찰

1) 대조군

전 실험시간동안 정상적인 백서하악과두의 조직소견을 보였다. 염기성 염색체의 농염되는 방추형의 세포들이 관절면에 평행하게 배열되고 심층으로 이행되면서 핵이 커지고 난원형으로 보이는 연골세포들이 연골기질로 분리되어 나타나는 증식대(proliferating zone)가 관찰되었다. 그 하부에는 초자양연골로 구성된 비대대(hypertrophic zone)가 관찰되었으며 이 부위의 연골세포들은 공포를 형성하고 관절면에 수직으로 배열되며 골수강쪽으로 갈수록 세포의 크기가 증대되었다. 또한 연골세포층 직하

Table 1. Bone density expressed as aluminum step wedge thickness in condylar head region

(mm Al ±S.D.)

group / period	control	hydrocortisone	elcatonin	cyclophosphamide
6 days	0.53 ±0.02	0.58 ±0.18	0.55 ±0.03	0.54 ±0.04
15 days	0.68 ±0.09	0.95 ±0.13**	0.58 ±0.01*	0.67 ±0.05
22 days	0.94 ±0.13	0.99 ±0.15	0.71 ±0.14*	0.72 ±0.11

* : $p < 0.05$, ** : $p < 0.01$

Table 2. Bone density expressed as aluminum step wedge thickness in condylar neck region

(mm Al ±S.D.)

group / period	control	hydrocortisone	elcatonin	cyclophosphamide
6 days	0.40 ±0.02	0.51 ±0.07*	0.43 ±0.04	0.41 ±0.04
15 days	0.46 ±0.05	0.51 ±0.04	0.52 ±0.07	0.48 ±0.11
22 days	0.50 ±0.04	0.62 ±0.10	0.60 ±0.18	0.51 ±0.06

* : $p < 0.05$

부에는 연골세포와 석회화조직이 혼합되어 나타났고 이로부터 골소주가 방사상으로 주행하는 해면골로 이행되었다. 이 부위의 골소주에서는 골세포와 연골세포가 혼재되어 있었으며 골수강은 소성결합조직으로 구성되고 골면에 존재하는 방추형의 조골세포는 완전한 해면골이 보이는 곳에 주로 존재하였다. 파골세포는 연골에서 석회화조직으로 이행되는 곳의 주변에서 관찰되기도 하였다(Figure 6, 7, 8).

2) 실험군

hydrocortisone 투여군에서는 실험 전 기간에 걸쳐 시일이 경과됨에 따라 점차 골형성이 증가되어 골소주가 불규칙하게 형성되는 양상이 관찰되었고, 연골세포층의 증식대도 증가되었으며 실험 22일 경과 후 소견에서 연골세포의 왕성한 분열 양상이 관찰되었다(Figure 9, 10, 11). elcatonin투여군에서도 실험 전 기간에 걸쳐 불규칙한 골소주 및 골형성상이 관찰되었으나, 실험 6일 경과후 소견에서 증가된 연골층 광화대의 석회화부전된 골소주상의 골양조직이 관찰되었고, 실험 15일 경과 후 연골층 하부에서 활발한 골소주의 석회화양상이 관찰되었다(Figure 12, 13, 14). cyclophosphamide 투여군에서는 실험 6일 경과후 소견에서 변성된 연골 및 골소주가 관찰되었고, 실험 15일 경과후 소견에서 연골세포의 수적 감소가 관찰되었으나 일부에서는 골형성상이 관찰되었고 부분적으로 잘 석회화된 골소주가 관찰되었으며, 실험 22일 경과후 소견에서는 연골세포의 수가 증가되었으나 부분적으로 골소강이 증가되었고 석회화물이 과침착된 골소주가 관찰되었다(Figure 15, 16, 17).

IV. 총괄 및 고안

하악두발생은 막내골화에 의하여 하악골의 발생이 진행된 다음 하악두 부위의 골막에서 조골세포 대신 연골모세포가 분화되어 연골이 발생되기 시작하고 이어 연골내골화가 진행되는데 이때 기계적자극, 내분비 또는 영양상태 등에 의하여 연골성장은 영향을 받게 된다[67]. 저자는 악안면의 해부학적 구조와 성장 발육시 다양한 변화에 대한 적응능력을 가지는 성장부위(growth site)이며, 골조직이 얇아서 골밀도와 해면골의 구조에서 야기되는 변화상을 X선 사진에서 쉽게 관찰할 수 있는 백서의 하악두를 연구재료로 채택하였다.

glucocorticoid의 골조직에 대한 주된 영향은 골손실을 유발하는 것으로 알려져 있는데, 이의 유발은 골형성억제[16,17]와 골흡수 증가[14,15]에 의한 직접적인 효과와 장관에서 칼슘의 재흡수의 감소 및 신장에서 이의 배설의 증가[68], 그리고 부갑상선호르몬 분비등에 의한 간접적인 효과[18,19]에 의한 것으로 여겨진다. 골형성억제는 glucocorticoid에 의한 조골세포의 기능억제 즉 교원질 및 osteocalcin의 합성감소[15], 조골세포의 분화 감소 그리고 조골세포의 수명단축등과 더불어 부갑상선호르몬, 1, 25-$(OH)_2D_3$, prostaglandin E_2와 somato-medin-C 같은 성장요소 등에 대한 조골세포반응의 증가에 의한다[17,18,68,69].

골흡수에 관한 glucocorticoid의 직접적인 효과에 대하여 Chen과 Feldman[14]은 파골세포

의 수적 증가 및 이의 활성화를, Reid등[70]은 시험관내 실험시에 ^{45}Ca유리가 증가되는 것은 골흡수의 자극을 시사한다고 연구보고한 바 있다. 그러나 Liskova-Kiar[5]는 cortisol이 파골세포의 전구세포가 파골세포로 분화하는 능력을 제한한다고 하였고, Suda등[4]은 hydrocortisone은 파골세포의 발생과 생존 및 그 기능을 억제하는데 hydrocortisone의 투여농도에 그 정도가 비례한다고 보고하여 glucocorticoid의 골조직에 대한 영향의 발현 양식은 다양하게 보고되고 있는데 이에 대해 Raisz등[71]은 그 원인이 실험방법들의 차이에 기인된다고 추정하였다.

한편 Jee등[19], Kenner[22], 및 Robert[21]는 cortisol의 투여용량과 기간에 따른 골조직의 변화에 대하여 저용량(low dose)에서는 골량이 감소하지만 과용량(high dose)투여시에는 장골에서 골흡수가 억제됨을 연구보고한 바 있고, Follis[72]는 과용량의 cortisol 투여후 성장기 쥐의 장골의 골단연골층의 감소 및 연골층 하방의 석회화연골기질의 흡수부전을 관찰하여 골파괴작용의 감소가 이러한 현상의 결과라고 주장하였다. 또한 시험관내 실험에 의한 연구보고로, Lukert와 Raisz[68]는 파골세포 기능 및 분화를 위하여서는 생리적 농도의 glucocorticoid가 필요하지만 파골세포가 고농도에 장기간 노출시에는 파골세포의 복제가 억제된다고 하였으며 Stern[73]은 부갑상선호르몬에 의하여 유발되는 골손실을 고농도의 steroid가 비특이적으로 억제한다고 하였는데, 이들의 연구결과로 미루어 고농도의 glucocorticoid에서는 파골세포에 대한 직접적인 억제작용이 있는 것으로 보인다. Lazor와 Rosenberg[74], Bentzel등[75]은 다발성 골수종에서 과도한 골흡수에 의하여 유발된 과칼슘혈증에 대하여 glucocorticoid가 혈청내 칼슘농도의 저하와 골흡수감소효과를 나타낸다고 보고하였는데 Strumpf등[76]은 파골세포활성인자(osteoclast activating factor)의 생산이 저농도의 cortisol에서는 영향을 받지 않으나 고농도에서는 이의 생산이 저하됨을 관찰하고 glucocorticoid가 파골세포활성화인자의 효과를 억제하여 혈청내에 칼슘농도를 저하시킨다고 주장함으로서 파골세포에 대한 glucocorticoid의 억제작용이 있음을 뒷받침하고 있다. 그러나 glucocorticoid의 조골세포 및 석회화과정에 미치는 영향에 대한 연구는 적은 것으로 보여진다.

본 연구에서는 매일 체중 kg당 30mg의 비교적 과용량의 hydrocortisone을 투여하였는데 실험 6일, 15일, 22일째에 하악과두부에서 골밀도가 증가되었으며 비교적 균일한 양상으로 골소주의 형태가 치밀해지는 소견이 연X선사진에서 관찰되었고 조직병리학적 소견에서도 활발한 골형성상이 관찰된 것은 선학들의 연구결과와 유사한 것으로 생각된다. 또한 골소주의 배열양상은 비교적 균일하며 부위에 따라 백악질양의 연X선사진소견이 관찰되어 elcatonin투여군과 cyclophosphamide투여군에 비하여 차이가 있었는데 이는 hydrocortisone과 이들 약제와는 골조직에 대한 작용의 차이가 있음을 보여주는 것으로 사료된다. 그러나 과용량의 hydrocortisone투여에 의하여 관찰된 이러한 양상이 골흡수 억제작용에 의해 나타나는지는 확실하게 구명되지 못하여 이에 관한 다각적인 연구가 필요한 것으로 생각된다.

중요한 칼슘 조절인자의 하나인 calcitonin이 골조직에 미치는 영향에 대하여, Chamber와 Magnus[6]는 시험관내 실험에서 배양된 파골세포는 calcitonin에 노출되면 즉시 이의 위족활동이 정지되며 그 정도는 calcitonin의 농도에 비례하지만 파골세포의 수명에는 영향을 주지 않는다고 하였고, Warshawsky등[27]과 Nicholson등[77]은 파골세포에는 calcitonin의 수용체가 풍부하다고 밝혔으며, Mazzuoli등[33]은 파골세포의 숫자의 감소를 연구 보고하였다. 또한 Baylink등[78]은 부갑상선이 제거된 쥐에 calcitonin을 투여시 골흡수가 현저히 감소됨을 보고한 바 있어 파골세포에 대한 직접적인 작용에 의한 골흡수 억제가 calcitonin의 주된 약리적 작용으로 보여진다.

한편 Chamber등[28]은 calcitonin이 조골세포에는 영향을 미치지 않는다고 하였으나 최근 골형성에 관한 많은 연구보고가 있다. Farlay

등[30]은 calcitonin이 조골세포에 직접 작용하여 골형성을 증가시키고 alkaline phosphatase 활성화와 교원질합성을 촉진시킨다고 보고하였고, Mazzuoli등[33]도 calcitonin이 골형성을 자극한다고 하였으며, 박과 이[13]는 elcatonin투여에 의한 골손실의 감소 및 조골능의 증가에 대해 연구보고하였고, Thompson등[38]은 calcitonin투여시 대퇴골에서 골체부의 피질골두께증가 및 척추골의 골소주가 비후해지고 치밀해진다고 하였다. Nakamura와 Kanda[9]는 elcatonin투여시 하악과두에 방사선불투과성의 주기적인 선문이 연X선사진상에서 관찰된다고 보고하면서 골흡수에 대한 elcatonin의 억제효과가 회복되었음을 시사한다고 하였다. Raisz등[79]도 calcitonin의 골흡수작용은 일시적으로 일어나는 효과라고 하였는데 이의 이유는 calcitonin투여 후 시간의 경과에 따라 이들이 분해되고 calcitonin수용체의 숫자와 친화력감소에 기인한다고 연구보고한 바 있어, 이들의 연구결과는 Nakamura와 Kanda[9]의 연구결과와도 일치되는 것으로 판단된다.

본 연구에서는 인체의 골송조증 치료에 사용되는 약리적 농도의 약 7배에 해당하는 과용량인 체중 kg당 20U의 elcatonin을 백서에 22일간 매일투여하여 하악과두부에서의 골조직변화를 관찰하였던 바, elcatonin투여 후 15일군과 22일군의 연X선사진상에서는 하악과두의 변연부에 한정되어 주기적인 선문을 관찰할 수 있어 Nakamura와 Kanda[9]의 연구 소견과 유사하였다. 또한 조직병리학적 관찰에서도 전체 실험 기간에 걸쳐 불규칙한 골소주 및 골형성상을 관찰 할 수 있었는데 이는 elcatonin의 골흡수 억제효과 이외에도 골형성촉진 효과에 의한 것으로 생각된다. 또한 본 연구에서는 elcatonin투여 15일군과 22일군에서는 골밀도가 대조군에 비하여 감소된 결과를 얻었다. 이 연구결과는 대조군의 하악과두에 비하여 elcatonin투여군에서는 조골세포의 활동이 활발하므로 이에 상응하여 골수조직이 증대된 결과[67], 연X선사진과 조직병리적 소견에서 불규칙한 골소주와 골형성상이 관찰되었지만 골밀도가 상대적으로 감소된 하나의 원인이 되는 듯하다.

한편, Indech와 Jowsey[25]는 calcitonin을 장기 투여시 발생된 저칼슘혈증과 이에 수반된 속발성 부갑상선기능항진증에 의한 파골세포의 기능증가를 보고하였고, Glajchen 등[40]도 과용량의 calcitonin을 투여하면 파골세포의 수가 증가되며 골형성이 감소된다고 보고하였다. 이와같이 calcitonin의 골조직에 대한 영향의 발현기전에는 상반된 연구결과들이 보고되고 있다. 따라서 calcitonin의 투여용량 및 투여기간에 따른 골조직의 변화에 대한 다각적이고 체계적인 연구가 더 있어야 할 것으로 사료된다.

항암제로 이용되는 cyclophosphamide는 간장의 과립체에 있는 phosphamidase 또는 phosphatase의 작용에 의하여 활성화되는데[3] 이 활성화된 대사산물이 종양세포에 독작용을 나타낸다[80,81]. cyclophosphamide는 nitrogen mustard와 조사X선의 세포와의 작용기전과 매우 유사하므로, 이 약제가 암세포의 분열 주기중 DNA합성기에 이의 합성을 방해하므로써 이들 세포의 분열을 억제하여 항종양효과를 나타낸다고 알려져 있다[41-43,82,83].

Wheeler[3]는 cyclophosphamide가 핵산의 합성과 대사를 방해하고 핵산을 알킬화 하여 이를 변화시켜 세포의 독작용을 일으키는데 cyclophosphamide의 β-chloroethyl군이 DNA의 guanine 구조중 7-nitrogen을 알킬화 시킴으로서 RNA보다는 DNA합성억제효과가 크다고 하였다. 또한 cyclophosphamide는 세포분열증식이 활발한 골수의 조혈기관의 심한 억제효과를 나타낸다[84,85]. Aisenberg[48], Lerman와 Weidanz[86]는 cyclophosphamide가 임파구의 DNA합성을 억제하므로서 세포분열을 억제하며 면역억제효과를 나타낸다고 하였다. 그러나 cyclophosphamide가 골조직에 미치는 영향에 관한 연구는 아직까지 미흡한 점이 많은 것을 판단된다. 골수내의 전조골세포는 cyclophosphamide에 감수성이 높지 않으나[87], 최[50]와 김[51]은 발치창 및 골절부 치유과정에 미치는 cyclophosphamide의 영향을 연구하여 이 약제가 결체조직 및 골기질의 교원질형성을 방해하

여 조골작용을 억제하므로 골조직의 재생이 지연된다고 하였다.

한편 최근에는 cyclophosphamide와 골세포와의 관계를 면역학적으로 구명하려는 연구가 많이 이루어지고 있다. Yoneda와 Mundy[88]는 T임파구가 파골세포의 발생이나 이를 활성화시키는 prostaglandin E_2, 파골세포활성인자(OAF)의 생성에 관여된다고 하였으며, Mark와 Schneider[89], Horton등[90]도 임파양세포와 파골세포와의 관계를 정립하려고 시도하였다. Norbury와 cllen[7]은 체중 kg당 100mg 이상의 과용량의 cyclophosphamide를 투여하면 면역억제효과가 일어나고 T세포에 의한 파골세포 활성인자의 유리가 손상됨으로 골소주의 두께와 수가 증가되며 이 결과로 골경화증이 야기되며 골수강이 폐쇄된다고 하였다.

본 연구결과에서도 실험 15일군과 22일군의 연X선사진에서 불규칙한 골소주의 배열상과 점상의 X선불투과상이 판독되었는데 실험 22일군의 조직병리소견에서도 연골세포의 수가 증가되고 부분적으로 골소주에 석회화물이 과도하게 침착된 소견이 관찰되었다. 그러나 실험 22일군에서 하악과두의 골밀도가 대조군에 비하여 감소되었다. 이는 cyclophosphamide의 골형성 지연효과[50,51]에 기인된 결과로서 사료된다. 그러나 이러한 저자의 연구결과와 골소주가 증가되는 양상을 관찰한 Norbury와 Allen[7]의 연구결과와는 차이가 있는데 이는 실험동물의 성숙도, cylophosphamide의 투여용량 및 기간의 차이등에 기인되는 것으로 생각되며 이에 대하여 세포학적 측면에서 체계적인 연구가 필요한 것으로 사료된다.

이상에서 살펴본 바와같이 glucocorticoid, calcitonin 및 cyclophosphamide를 과용량 투여하면 골경화증이 발생된다는 것이 선학들에 의하여 밝혀져 있으며 본 연구에서도 선학들의 연구보고[8,10,19,37]와 유사한 결과를 얻었는데 연X선사진과 조직병리학적 관찰에서 각 약제에 따른 골경화양상의 차이가 있었다. 이러한 차이는 glucocorticoid, calcitonin 및 cyclophosphomide의 골조직에 대한 흡수침착을 일으키는 작용기전의 차이에 인한 것이 아닌가 생각된다.

따라서 이들 약제의 투여용량 및 기간에 따른 single photon absorptiometry, dual photon absorptiometry, quantitative computed tomography[54,55], 중성자방사화분석[91], 방사성동위원소[73]등을 이용한 골밀도의 체계적인 측정은 물론이거니와 골경화증의 발현양상에 대한 조직병리학적 구명과 연X선사진을 이용한 형태적인 변화상을 구명하는 것이 필요한 것으로 사료된다.

V. 결 론

hydrocortisone, elcatonin 및 cyclophosphamide의 과용량 투여시에 발생되는 골조직의 형태와 구조의 변화를 구명하기 위하여 저자는 본 연구를 시행하였다.

실험동물은 60마리의 4주령인 백서이었으며 이들은 대조군과 실험군의 각 군에 15마리씩 배정하였다. 대조군에는 체중 kg당 0.9% 생리식염수 5ml를 실험기간중 매일 피하주사하였다. 한편 실험군에는 glucocorticoid로서는 hydrocortisone을, calcitonin으로서는 elcatonin을 체중 kg당 각각 30mg과 20U씩 22일간 매일 경배부에 피하주사 하였으며, cyclophosphamide는 체중 kg당 100mg을 실험 제1일에 복강내에 단회 주사하였다. 각 군의 실험동물을 실험 6일, 15일, 22일째에 5마리씩 희생시킨 후 양측하악과두부를 적출하여 연X선촬영과 조직 표본 제작에 각각 이용하였다. 얻어진 연X선사진에서는 하악과두와 하악과두경 골조직의 육안적 변화양상을 직접 관찰하고, 이들 연X선사진을 video based digital radiograph화하여 이들 부위의 골밀도를 측정하였으며, 또한 조직병리학적으로 이들 부위의 골조직의 변화상을 관찰하였던 바 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 연X선사진을 육안적으로 관찰한 결과 hydrocortisone투여군에서는 전체 실험 기간에 골소주가 비교적 균일하게 치밀하여지는 골경화상이, elcatonin투여군에서는 실험기간이 경

과함에 따라 불규칙한 골소주의 수가 증가되는 경향과 하악과두의 변연부에서의 주기적인 선문의 형성상이, 그리고 cyclophosphamide투여군에서는 실험기간이 경과함에 따라불규칙한 골소주의 배열상과 하악과두부에서 점상의 X선불투과상들이 관찰되었다.

2. 실험기간에 따른 하악과두의 골밀도는 대조군에 비하여 hydrocortisone투여군에서는 컸으나, elcatonin투여군에서는 감소되었고 cyclophosphamide투여군에서는 감소되는 경향이었다.

3. 실험기간에 따른 hydrocortisone, elcatonin 및 cyclophosphamide투여군에서의 하악과두경의 골밀도는 대조군에 비하여 근소하게 증가되는 경향이었다.

4. 조직병리학적 소견으로, hydrocortisone투여군과 elcatonin투여군에서는 불규칙한 골소주와 골형성상이 전체 실험기간에서 관찰되었으나, cyclophosphamide투여군에서는 변성된 연골 및 골소주가 실험 6일군에서, 부분적으로 석회화물이 과침착된 골소주가 실험 22일군에서 각각 관찰되었다.

참 고 문 헌

1. Dykman, T.R., Gluck, O.S., Murphy, W.A., Hahn, T.J., and Hahn, B.H.: Evaluation of factors associated with glucocorticoid – induced osteopenia in patients with rhematic disease. Arthritis Rheum., 28:361-368, 1985.
2. Austin, L.A. and Heath, H.: Calcitonin: physiology and pathology. New Engl. J. Med., 304:269-278, 1981.
3. Wheeler, G.P.: Studies related to the mechanisms of action of cytotoxic alkylating agents: a review. Cancer Res., 22:651-688, 1962.
4. Suda, T., Testa, N.G., Allen, T.D., Onions, D., and Jarrett, O.: Effect of hydrocortisone on osteoclasts generated in cat bone marrow cutures. Calcif. Tissue Int., 35:82-86, 1983.
5. Liskova-Kiar, M.: Mode of action of cortisol on bone resorption in fetal rat fibulae cultured in vitro. Am. J. Anat., 156:63-76, 1979.
6. Chambers, T.J. and Magnus, C.J.: Calcitonin alters behavior of isolated osteoclast. J. Pathol., 136:27-40, 1982.
7. Norbury, K.C. and Allen, H.L.: Cyclophosphamide induced osteopetrosis in rats. Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol., 31: 141-153, 1982.
8. Nakamura, T. and Kanda, S.: The role of macropages in osteoclast neogenesis in vivo: quantitative analysis of osteoclasts and macrophages in endochondral bone development in rats treated with hydrocortisone or calcitonin. Metab. Bone Dis. Relat. Res., 5:139-143, 1983.
9. Nakamura, T. and Kanda, S.: Radiographic evaluation of effects of calcitonin, hydrocortisone and cyclophosphamide on the mandibular condyle of growing rat. Dent. Radiol., 23:142-245, 1984.
10. Bloom, W. and Fawcett, D.W.: A textbook of histology. 9th ed., W.B. Saunders Co., pp. 223-262, 1969.
11. Goth, A.: Medical pharmacology. 11th ed., The C.V. Mosby Co., pp. 527-538, 1984.
12. Simmons, D.J. and Kunin, A.S.: Autoradiographic and biochemical investigations of the effect of cortisone on the bones of the rat. Clin. Orthop., 55:201-215, 1967.
13. 박동진, 이상래 : glucocorticoid의 장기간 투여 및 운동억제에 의한 골손실시 calcitonin의 예방효과에 관한 실험적 연구. 대한구강악안면방사선학회지, 19 : 69-89, 1989.
14. Chen, T.L. and Feldman, D.: Glucocorticoid receptors and actions in subpopulations of

cultured rat bone cells. Mechanism of dexamethasone potentiation of parathyroid hormone-stimulated cyclic AMP production. J. Clin. Invest., 63:750-758, 1979.

15. Reid, I.R., Chapman, G.E., Fraser, T.R.C., Davies, A.D., Surus, A.S., Meyer, J., Huq, N.L., and Ibbertson, H.K.: Low serum osteocalcin levels in glucocorticoid treated asthmatics. J. Clin. Endocrinol. Metab., 62:379-383, 1986.
16. Hahn, T.J., Halsteal, L.R., Teitelbaum, S.L., and Hahn, B.H.: Altered mineral metabolism in glucocorticoid–induced osteopenia: effect of 25 hydroxy vitamin D administration. J. Clin. Invest., 64:655-665, 1979.
17. Wong, G.L., Lukert, B.P., and Adams, J.S.: Glucocorticoids increase osteoblast–like bone cell response to $1,25(OH)_2D_3$. Nature, 285:254-257, 1980.
18. Fucik, R.F., Kukreja, S.C., and Hargis, C.K.: Effect of glucocorticoids on function of the parathyroid glands in man. J. Clin. Endocrinol. Metab., 40:152-155, 1975.
19. Jee, W.S.S., Park, H.Z., Roberts, W.E., and Kenner, G.H.: Corticosteroid and bone. Am. J. Anat., 129:477-480, 1970.
20. Kimberg, D.V., Baerg, R.D., Gershon, E., and Gracidustus, R.T.: Effect of cortisone treatment on the active transport of calcium by the small intestine. J. Clin. Invest., 50: 1309-1321, 1971.
21. Roberts, W.E.: The effects of cortisol on the cellular kinetics of cell population dynamics of periodontal ligament bone cells. Ph.D. Thesis, Department of Anatomy, University of Utah, Salt Lake City, Utah, 1969. (cited from 13)
22. Kenner, G.H.: Adrenal cortical hormones and mineral kinetics in young and adult rats. Ph.D. Thesis, Department of Anatomy, University of Utah, Salt Lake City, Utah, 1970. (cited from 13)
23. Tobias, J. and Chambers, T.J.: Glucocorticoid impair bone resorptive activity and viability of osteoclasts disaggregated from neonatal rat long bones. Endocrinology, 125:1290-1295, 1985.
24. 析茂肇：カルチトニソと骨粗鬆症，骨粗鬆症研究の進歩，第二巻，第三部，第六回 骨粗鬆症 研究會記錄，pp.33-52, 1986.
25. Indech, M. and Jowsey, J.: Secondary hyperparathyroidism produced in kittens repeatedly given porcine calcitonin. Endocrinology, 88:1489-1496, 1971.
26. MacIntyre, I., Alevizaki, M., Bevis, P.J.R., and Zaidi, M.: Calcitonin and the peptides from the calcitonin gene. Clin. Orthop., 217:45-55, 1987.
27. Warshawsky, H., Goltzman, D., Rouleau, M.F., and Bergeron, J.J.M.: Direct in vivo demonstration by radioautography of specific binding sites for calcitonin in skeletal and renal tissues of the rat. J. Cell Biology, 85:682-694, 1980.
28. Chambers, T.J., McSheehy, P.M.J., Thompson, B.M., and Fuller, K.: The effect of calcium regulating hormones and prostaglandins on bone resorption by osteoclasts disaggregated from neonatal rabbit bones. Endocrionology, 60:234-239, 1985.
29. Dokoh, S., Fukunaga, M., Yamamoto, I., Torizuka, K., and Morita, R.: Evaluation by using radionuclide uptake of bone in Paget's disease of bone: special reference to treatment with calcitonin. Radioisotope, 37: 339-342, 1988.
30. Farley, J.R., Hall, S.L., and Tarbaux, N.M.: Calcitonin (but not calcitonin gene-related peptide) increase mouse bone cell proliferation in dose–dependent manner, and in-

crease mouse bone formation, alone and in combination with fluoride, Calcif. Tissue Int., 45:214-221, 1989.

31. Mark, S.J., Woodard, C.J., and Aurbach, G.O.: Calcitonin receptors of kidney and bone. Science, 178:999-1001, 1972.
32. Mittleman, R., Chausmer, A., Bellavia, J., and Wallach, S.: Thyrocalcitonin activity in hypercalcemia produced by calcium salts, parathyroid hormone and vitamin D. Endocrinology, 81:599-604, 1987.
33. Mazzuoli, G.F., Passeri, M., Gennari, C., Minisola, S., Antonelli, R., Valtorta, C., Cervellin, G.F., Gonnelli, S., and Francini, G.: Effect of salmon calcitonin in postmenopausal ostepoporosis: a controlled double-blind clinical study. Calcif. Tissue Int., 38:3-8, 1986.
34. Resch, H., Pietschmann, P., and Willvonseder, R. :Estimated long-term effect of calcitonin treatment in acture osteoporotic fractures. Calcif. Tissue Int., 45:209-213, 1989.
35. Gruber, H.E., Ivey, J.L., Baylink, D.J., Matthews, M., Nelp, W.B., Sisom, K. and Chesnutt III, C.H.: Long-term calcitonin therapy in postmenopausal ostepoporosis. Metabolism, 33:295-303, 1984.
36. Leggata, J., Farish, E., Fletcher, C.D., Mcintosh, W., Hart, D.M., and Sommerville, J.M.: Calcitonin and postmenopausal ostepoporosis. Clin. Endocrinol., 20:85-92, 1984.
37. Jowsey, J.: Effect of long-term administration of porcine calcitonin in the development of dietary osteoporosis in cats. Endocrinology, 85:1196-1201, 1969.
38. Thompson, J.S., Palmieri, G.M.A., Eliel, L.P., and Cutler, G.A.: Effects of cortisone and adrenalectomy on the responses to thyrocalcitonin. Endocrinology, 83: 470-475, 1968.
39. Thompson, J.S., Palmieri, G.M.A., and Crawford, R.L.: The effect of porcine calcitonin on osteoporosis induced by adrenal cortical steroids. J. Bone Joint Surg., 54: 1491-1499, 1972.
40. Glajchen, N., Jowell, P., Epstein, S., Ismail, F., and Fallon, M.: The effect of high-dose salmon calcitonin on bone mineral metabolism in the normal rat. Calcif. Tissue Int., 46:28-32, 1990.
41. Door, R.T. and Fritz, W.L.: Cancer chemotherapy handbook. Elsevier, pp. 342-351, 1980.
42. Singh, S., Sanyal, A.K., and Singh, S.P.: Digital anomalies induced by cyclophosphamide (Endoxan-ASTA) in rat foetuses. Acta Orthop. Scand., 45:21-35, 1974.
43. Adatia, A.K.: Effects of cyclophosphamide on odontogenesis in the rat. J. Dent. Res., 52:981, 1973.
44. Going, H., Gunthers, G., Gujarathi, S., and Kaiser, P.: Immunocyte depression induced by cyclophosphamide in rats. Int. Arch. Allergy, 38:420-426, 1970.
45. Hellman, S. and Grate, H.E.: Effect of cyclophosphamide on the murine hematopoietic stem cell compartment as measured by different assay techniques. Blood, 38: 706-714, 1971.
46. Winkelstein, A.: Mechanism of immunosupression: effect of cyclophosphamide on cellular immunity. Blood, 41: 273-284, 1973.
47. Parrott, D.M.V., De Sousa, M.A.B., and East, J.: Thymus-dependent areas in the lymphoid organs of neonatally thymectomized mice. J. Exp. Med., 123:191-204, 1966.
48. Aisenberg, A.C.: Studies on cyclophos-

phamide-induced tolerance to sheep erythrocytes. J. Exp. Med., 125:833-845, 1967.
49. Paterson, P.Y., Hanson, M.A., and Gerner, E.W.: Cyclophosphamide inhibition of experimental allergic encephalomyelitis in wister rats. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 124:928-932, 1967.
50. 최진건 : cyclophosphamide가 백서 발치창 치유과정에 미치는 영향에 관한 실험적 연구. 대한치과의사협회지, 20 : 347-357, 1982.
51. 김용각 : 항암제 투여가 골절치유에 미치는 영향에 관한 실험적 연구. 대한치과의사협회지, 16 : 43-48, 1978.
52. Johnston Jr., C.C. and Epstein, S.: Clinical, biochemical, radiographic, epidermiologic and economic features of osteoporosis. Ortho. Clin. North Am., 12:550-569, 1981.
53. Mack, P.B., Brown, W.N., and Trapp, H.D.: The quantitative evaluation of bone density. Am. J. Roentgenol., 61:808-825, 1949.
54. Goodwin, P.N.: Methodologies for the measurement of bone density and their precision and accuracy. Semin. Nucl. Med., 17 393-404, 1987.
55. Ealth and Public Policy Committee. American College of Physicians.: Bone mineral densitometry. Ann. Intern. Med., 107:932-936, 1987.
56. Kälebo, P. and Strid, K.-G.: Radiographic videodensitometry for quantitative monitoring of experimental bone healing. Br. J. Radiol., 62:883-889, 1989.
57. Inoue, T., Kusida, K., Miyamoto, S., Sumi, Y., Orimo, H., and Yamashida, G.: Quantitative measurement of bone density on X-ray picture. J. Jpn. Orthop. Ass., 57:1923-1936, 1983.
58. Anderson, J.B., Shimmin, J., and Smith, D.A.: A new technique for the measurement of metacarpal density. Br. J. Radiol., 39: 443-450, 1966.
59. Smith, D.M., Johnston, C.C. Jr., and Yu, P.L.: In vivo measurement of bone mass: its use in demineralized states such as osteoporosis. J. Am. Med. Assoc., 219:325-329, 1972.
60. Mainland, D.: Measurement of bone density: Bias and variation due to radiographic and photometric techniques. Ann. Rheumat. Dis., 15:115-118, 1956.
61. Mallon, D.E. and Mellberg, J.R.: Analysis of dental hard tissue by computerized microdensitometry. J. Dent. Res., 64:112-116, 1985.
62. Yonekura, Y., Brill, A.B., Som, P., Bennett, G.W., and Fand, I.: Quantitative autoradiographic with radiophalmaceuticals, Part 1: Digital film analysis system by videodensitometry: concise communication. J. Nucl. Med., 24:231-237, 1983.
63. Strid, K.-G. and Kälebo, P.: Bone mass determination from microradiographs by computer-assisted videodensitometry. I. Methology. Acta. Radiol., 29:465-472, 1988.
64. Kälebo, P. and Strid, K.-G. : Bone mass determination from microradiographs by computer-assisted videodensitometry. II. Aluminium as a reference substance. Acta. Radiol., 29:611-617, 1988.
65. Duinkerke, A.S.H., Van de Poel, A.C.M., Doesburg, W.H., and Lemmens, W.A.J.G.: Densitometric analysis of experimentally produced periapical radiolucencies. Oral Surg., 43:782-796, 1977.
66. Duinkerke, A.S.H., Van de Poel, A.C.M., Van der Linden, F.P.G.M., Doesburg, W.H., and Lemmens, W.A.J.G.: Compensation of differences in density of radiographs by densitometry. Oral Surg., 46:637-642, 1978.

67. Ten Gate, A.R.: Oral histology: development, structure, and function. 2nd ed., The C.V. Mosby Co., pp. 101-128, 1985.
68. Lukert, B.P. and Raiaz, L.G.: Glucocorticoid induced osteoporosis: pathogens and management. Ann. Intern. Med., 112:352-364, 1990.
69. Hahn, T.J., Westbrook, S.L., and Halstead, L.R.: Cortisol modulation of osteoclast metabolic activity in cultured neonatal rat bone. Endocrinology, 114:1864-1870, 1984.
70. Reid, I.R., Katz, J.M., Ibbertson, H.K. and Gray, D.H.: The effect of hydrocortisone, parathyroid hormone, and the bisphosphonate, APD, on bone resorption in neonatal mouse calvaria. Calcif. Tissue Int., 38:38-43, 1986.
71. Raisz, L.G., Trummel, C.L., Wener, J.A., and Simmons, H.: Effect of glucocorticoids on bone resorption in tissue culture. Endocrinology, 90:961-967, 1972.
72. Follis, R.H. Jr.: Effect of cortisone on growing bones of the rat (18607). Proc. Soc. Exp. Biol. and Med., 76:722-724, 1951.
73. Stern, P.H.: Inhibition by steriods of parathyroid hormone-induced Ca^{45} release from embryonic rat bone in vitro. J. Pharmacol. Exp. Ther., 168:211-217, 1969.
74. Lazor, M.Z. and Rosenberg, L.E.: Mechanism of adrenal-steroid reversal of hypercalcemia in multiple myeloma. N. Engl. J. Med., 270:749-755, 1964.
75. Bentzel, C.J., Carbone, P.P., and Rosenberg, L.: The effect of prednisone on calcium metabolism and Ca^{47} kinetics in patients with multiple myeloma and hypercalcemia. J. Clin. Invest., 43:2132-2145, 1964.
76. Strumpf, M., Kowalski, M.A., and Mundy, G.R.: Effect of glucocorticoids on osteoclast activating factor. J. Lab. Clin. Med., 92: 772-778, 1978.
77. Nicholson, G.C., Moseley, J.M., Sexton, P.M., Mendelsohn, F.A.D., and Martin, T.J.: Abundant calcitonin receptors in isolated rat osteoclasts. J. Clin. Invest., 78:355-360, 1986.
78. Baylink, D., Morey, E., and Rich, C.: Effect of calcitonin on the rates of bone formation in the rat. Endocrinology, 84:261-269, 1969.
79. Raisz, L.G., Au, W.Y.W., Friedman, J., and Neimann, I.: Thyrocalcitonin and bone resorption: Studies employing a tissue culture bioassay. Am. J. Med., 43:684-690, 1967.
80. Brock, N., Gross, R., Hohorst, H.J., Klein, H.O., and Schneider, B.: Activation of cyclophosphamide in man and animals. Cancer, 27:1512-1529, 1971.
81. Brock, N. and Hohorst, H.J.: Metabolism of cyclophosphamide. Cancer. 20:900-904, 1967.
82. Russell, L.B.: X-ray induced developmental abnormalities in the mouse and their use in the analysis of embryological patterns. J. Exp. Zool., 114:545-602, 1950.
83. Nogami, H.: Digital malformations in the mouse foetus caused by X-radiation during pregnancy. J. Embryol. Exp. Morph., 12: 637-656, 1964.
84. Ritter, E.J., Scott, W.J., and Wilson, J.G.: Teratogenesis and inhibition of DNA synthesis induced in rat embryo by cystosine arabinoside. Teratology, 4:7-13, 1971.
85. Sternram, U. and Nordlinder, H.: Delayed death in rats treated with cyclophosphamide. Nature, 219:1154-1155, 1968.
86. Lerman, S.P. and Weidanz, W.P.: The effect of cyclophosphamide on the ontogeny of the humoral immune response in chickens. J. Immunol., 105:614-619, 1970.

87. Amsel, S. and Dell, E.S.: Response of the preosteoblast and stem cell of rat bone marrow to a lethal dose of X-irradiation or cyclophophamide. Cell Tissue Kinet., 4: 255-261, 1971.
88. Yoneda, T. and Mundy, G.R.: Prostaglandins are necessary for osteoclast-activating factor production by activated peripheral blood leukocytes. J. Exp. Med., 149:279-283, 1979.
89. Mark, S.C. Jr. and Schneider, G.B.: Evidence of a relationship between lymphoid cells and osteoclasts: bone resorption restored in ia (osteopetrotic) rats by lymphocyte, monocyte, and macrophages from a neonatal littermate. Am. J. Anat., 152:331-342, 1978.
90. Horton, J.E., Raisz, L.G., Simons, H.A., Oppenheim, J.S., and Megenhagen, S.E.: Bone resorbing activity in supermatant fluid from cultural human peripheral blcod leukocyte. Science, 177:793-795, 1972.
91. Nelp, W.B., Palmer, H.E., Murano, R., Pailthorp, K., Hinn, G.M., Rich, C., William, J.L., Rudd, T.G., and Denney, J.D.: Measurement of total body calcium (bone mass) in vivo with the use of total body neutron activation analysis. J. Lab. Clin. Med., 76: 151-162, 1970.

– ABSTRACT –

A STUDY ON THE EFFECT OF HIGH-DOSE HYDROCORTISONE, ELCATONIN AND CYCLOPHOSPHAMIDE ON THE MANDIBULAR CONDYLE

Dong Jin Shin, Sang Rae Lee

Department of Oral Radiology, College of Dentistry, Kyung Hee University

The purpose of this study was to investigate the changes of morphology and structure of bone tissue, caused by administration of high-dose hydrocortisone, elcatonin and cyclophosphamide.

In order to carry out experiment, 60 four-week old Sprague-Dawley strain rats weighing about 107 gms were selected and divided into experimental group and control group. The experimental group was subdivided into three groups, assigned fifteen rats for each group, by the different drugs administered. Each experimental group was then categorized as follows: hydrocortisone 30 mg/kg b.w. with daily subcutaneous injection, elcatonin 20 U/kg b.w. with daily subcutaneous injection, and cyclophosphamide 100mg/kg b.w. with a single intraperitoneal injection. Fifteen rats were injected daily with 5ml/kg b.w. of normal saline solution subcutaneously in control group. Rats in control group and experimental group were serially sacrificed on the 6th, the 15th and the 22nd day after injection of normal saline, hydrocortisone, elcatonin and cyclophosphamide, respectively. Being sacrificed, both sides of mandibular condyles were removed and fixed with 10% neutral formaline. The one side of mandibular condyles was radiographed with soft X-ray apparatus. Thereafter, the obtained radiographs were observed, and the bone density of condylar head and condylar neck regions was measured by use of transferring video-based digital radiograph. The other side was further decalcified and embedded in paraffin as usual manner, then sectioned and stained with hematoxylin and eosin, observed by light microscope.

The obtained results were as follows:

1. Sclerotic changes with regularly increased trabecular pattern were seen throughout experimental periods in hydrocortisone group. Increased the number of trabecular pattern with irregularity and periodic striation on the periphery of condylar head region were appeared with lapse of time in elcatonin group. In cyclophosphamide group, irregular trabecular pattern and stippled radiopacities on mandibular condyle were observed with lapse of time.
2. The bone density of condylar head region was increased in hydrocortisone group, decreased in elcatonin group, and tended to be decreased in cyclophosphamide group, compared with that of control group according to the experimental periods.

3. The bone density of condylar neck region tended to be rather increased in hydrocortisone group, elcatonin group and cyclophosphamide group, depending on the experimental periods.
4. In microscopic studies, there were irregular trabecular bonds and osteoblastic activity in hydrocortisone group and elcatonin group throughout experimental periods, degenerative cartilage and trabecular bones in the 6th day and densely calcified trabecular bones in the 22nd day in cyclophosphamide group.

EXPLANATION OF FIGURES

Fig. 2. Typical radiographs of the mandibular condyles from control rats.
Sacrificed on day 6(a), day 15(b), day 22(c). (x8)

Fig. 3. Radiographs of the mandibular condyles from rats administrated with hydrocortisone.
Sacrificed on day 6(a), day (15(b), day 22(c). (x8)
Radiographs shows gradual increase trabecular pattern and become progressively more dense.

Fig. 4. Radiographs of the mandibular condyles from rats administrated with elcatonin.
Sacrificed on day 6(a), day 15(b), day 22(c). (x8)
Radiographs shows periodic striations in condylar head region on day 15, and 22.

Fig. 5. Radiographs of the mandibular condyles from rats administrated with cyclophosphamide.
Sacrificed on day 6(a), day 15 (b), day 22(c). (x8)
Radiographs shows stippled pattern of radiopacities on day 15, and 22.

Fig. 6,7,8. Photomicrograph shows normal mandibular condyle which contains 3 cartilage zones – zone of proliferation, hypertrophy, mineralization – and trabecular bones. (6, 15 and 22 days after saline injection; X100; H-E stain)

Fig. 9. Photomicrograph shows thickened zone of the proliferation and many newly formed trabecular bones (6 days after hydrocortisone injection: X100: H-E stain)

Fig. 10. Photomicrograph shows many irregular trabecular bones with osteoblastic activity beneath the cargilage layer. (15 days after hydrocortisone injection; X40; H-E stain)

Fig. 11. Photomicrograph shows mitotic figures on the cartilage layer and apparent osteoblastic activity on the irregular newly formed trabecular bones. (22 days after hydrocortisone injection; X200; H-E stain)

Fig. 12. Photomicrograph shows thickened zone of the mineralization with poorly calcification. (6 days after elcatonin injection; X100; H-E stain)

Fig. 13. Photomicrograph shows well calcified trabecular bones beneath the cartilage layer. (15 days after elcatonin injection; X100; H-E stain)

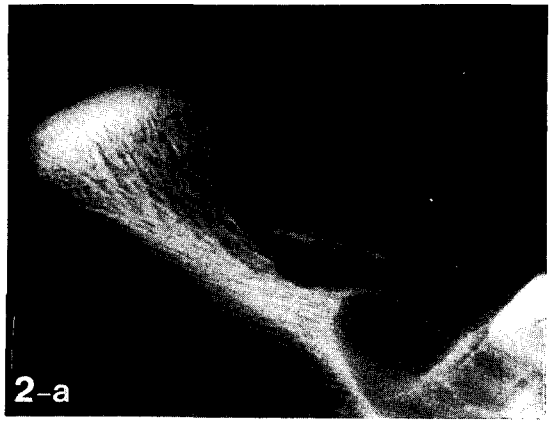
Fig. 14. Photomicrograph shows actively formed trabecular bones with irregular pattern. (22 days after elcatonin injection; X100; H-E stain)

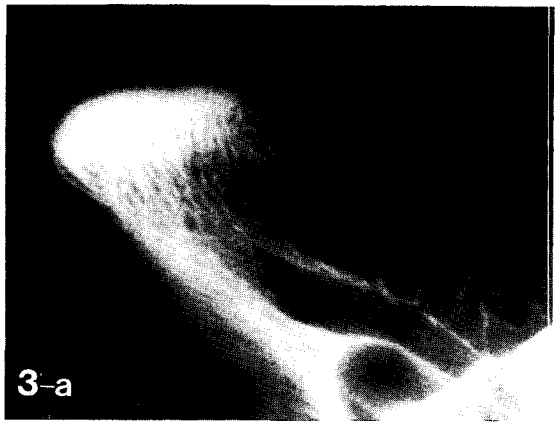
Fig. 15. Photomicrograph shows degenerative cartilage and trabecular bones with a few ostoblasts. (6 days after cyclophosphamide injection; X100; H-E stain)

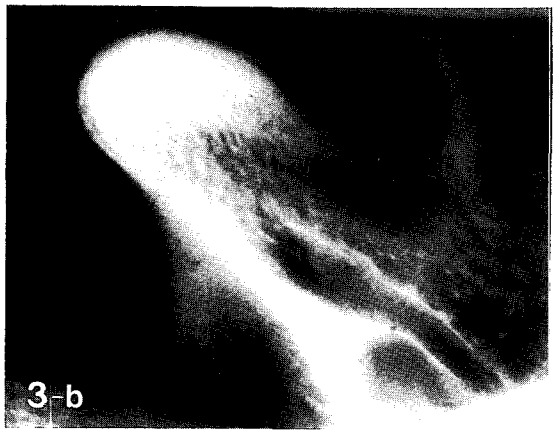
Fig. 16. Photomicrograph shows decrease number of cartilage cells, but shows osteoblastic activity and well calcified trabecular bones in some part. (15 days after cyclophosphamide injection; X100; H-E stain)

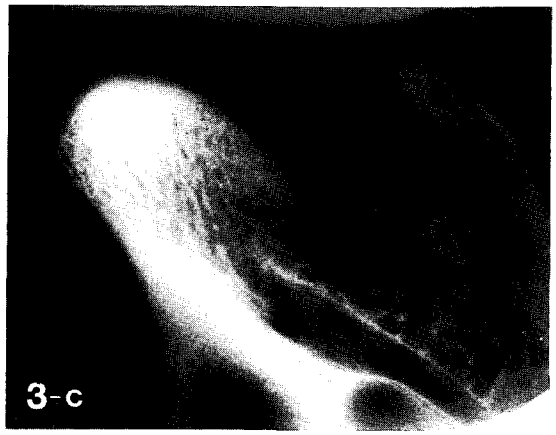
Fig. 17. Photomicrograph shows increase number of cartilage cells and densely calcified trabecular bones in several parts (22 days after cyclophosphamide injection; X100; H-E stain)

논문 사진부도 ①

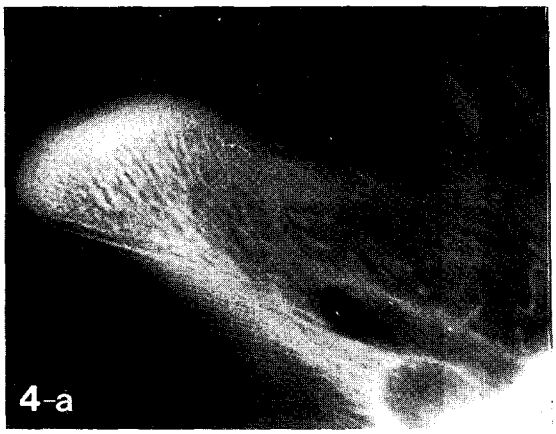


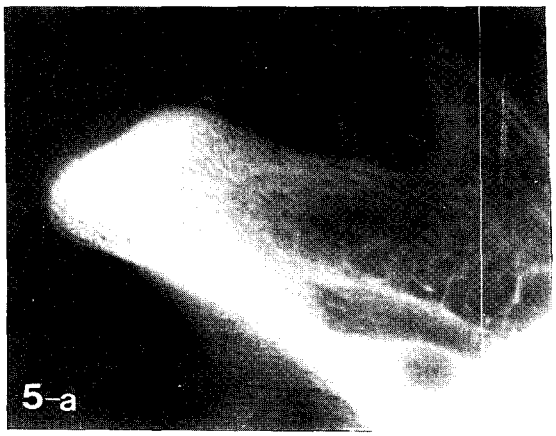


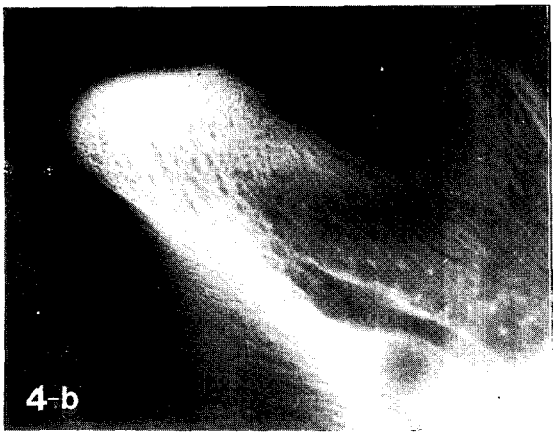


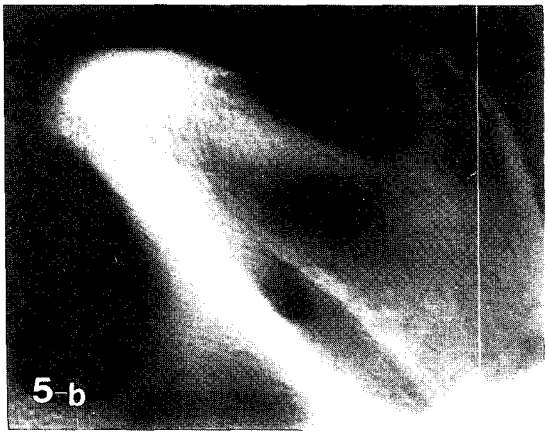


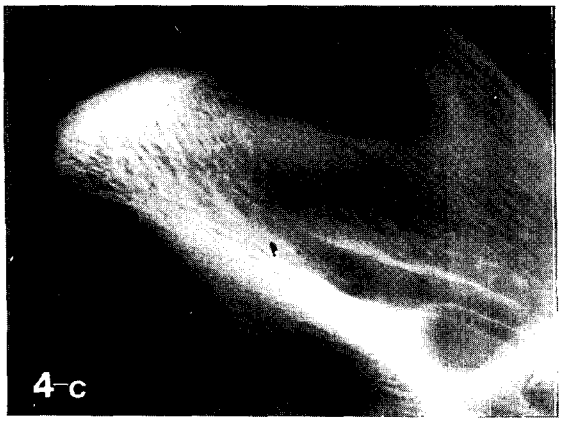
논문 사진부도 ②

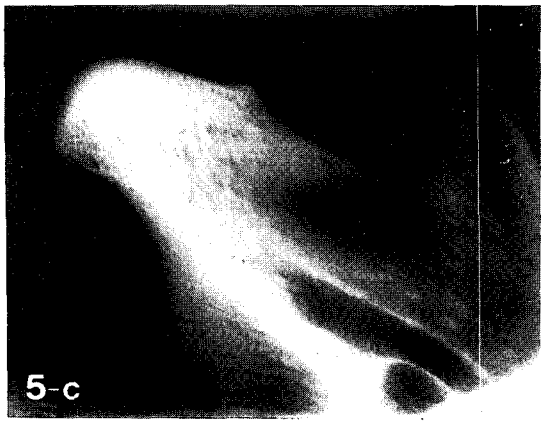




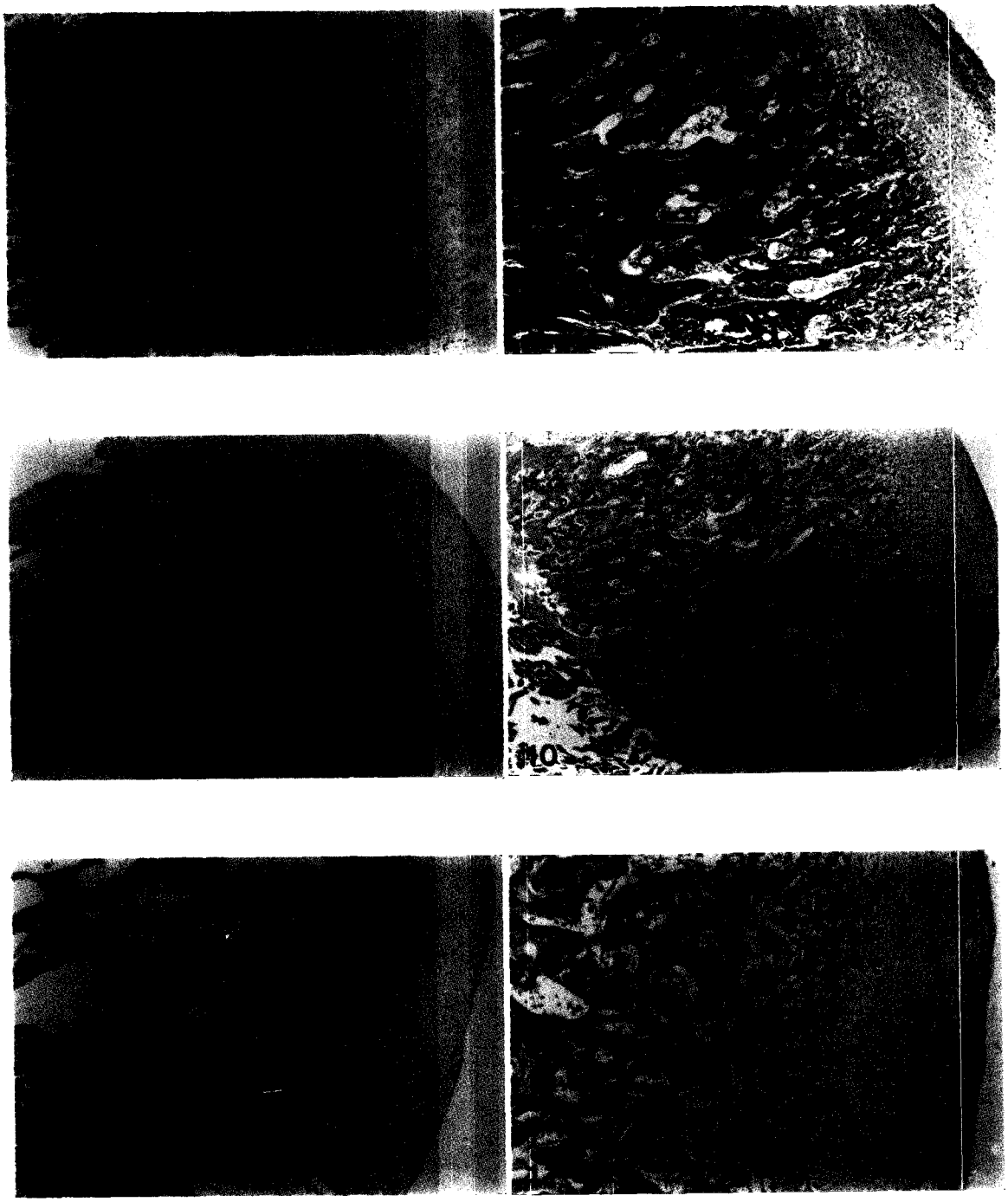




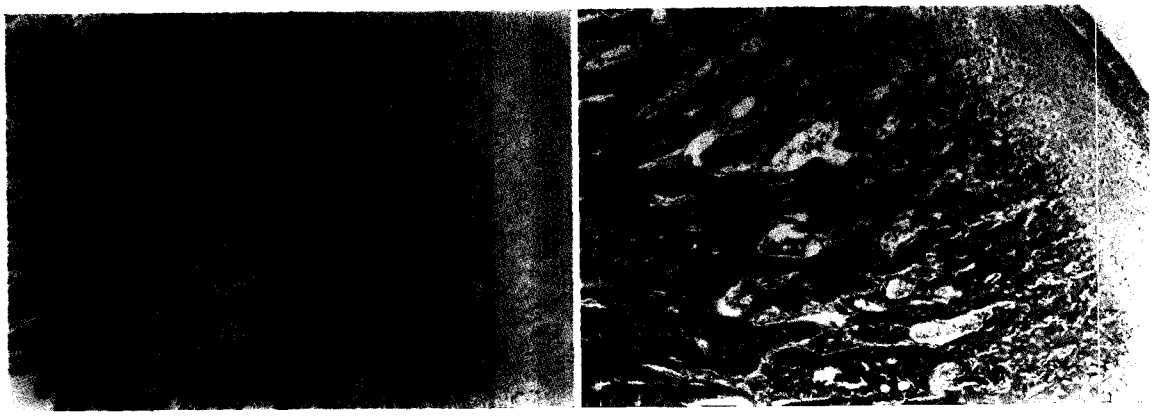


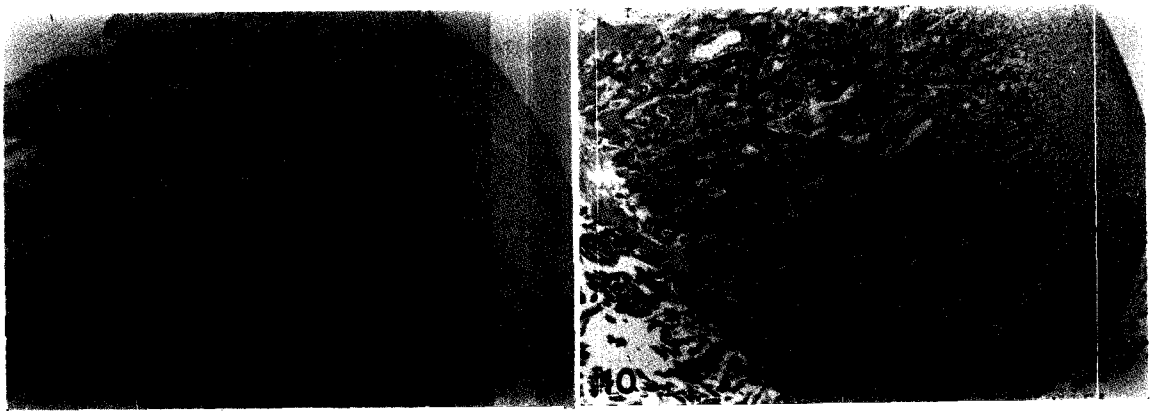
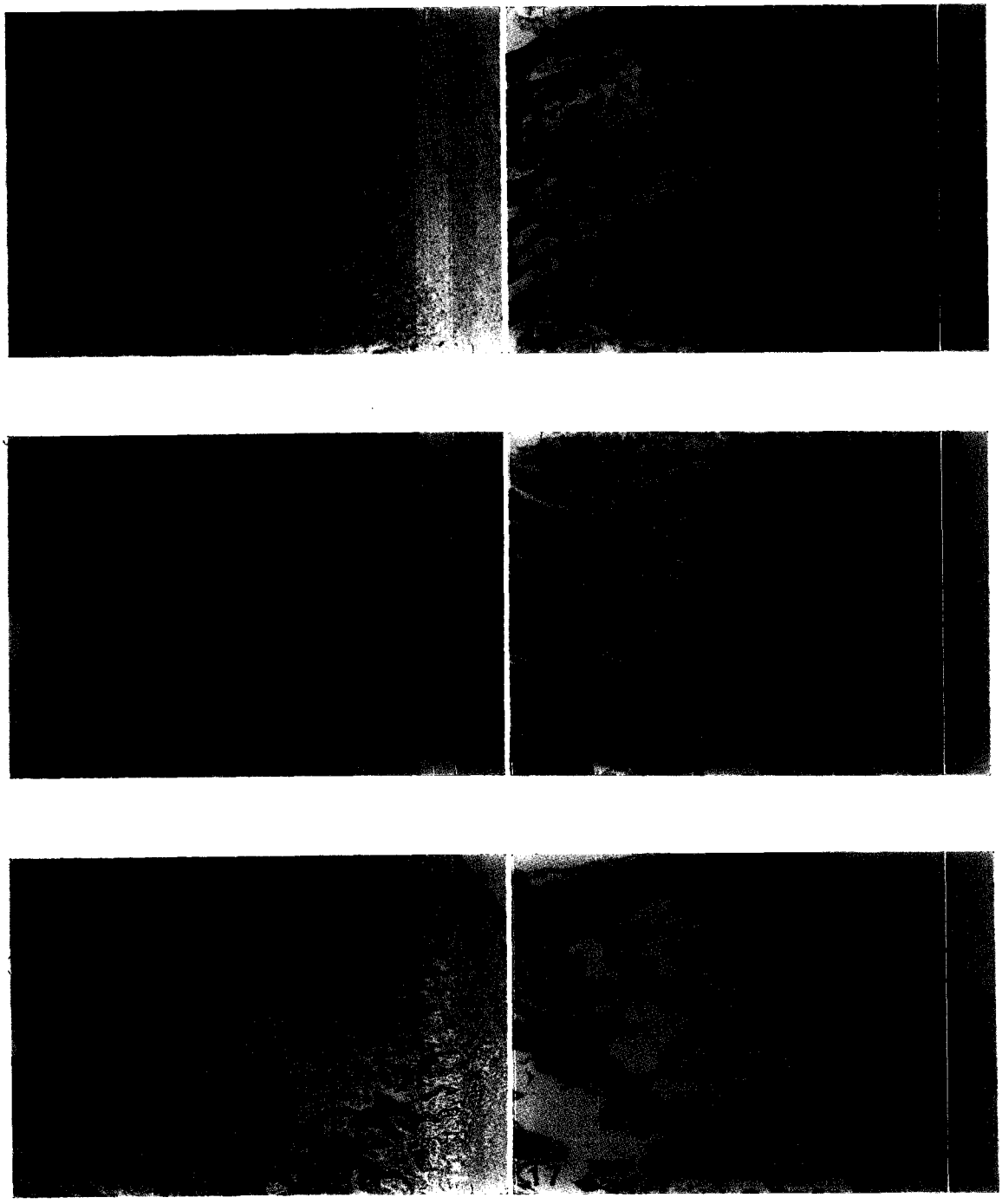


논문 사진부도 ③



논문 사진부도 ③





논문 사진부도 ④