

교정력이 치조골의 효소활성에 미치는 영향

서울대학교 치과대학 치과교정학교실

김 형 수 · 남 동 석

목 차

- I. 서 론
- II. 연구재료 및 방법
- III. 연구성적
- IV. 고 찰
- V. 결 론
- 참고 문헌
- 영문 초록

I. 서 론

교정장치를 이용한 치아이동은 적절한 교정력을 가했을 때 야기되는 치아 주위조직의 생물학적 반응인 골흡수와 골형성에 의한다고 할 수 있으며, 교정적 치아이동이 압박측에서는 골흡수를, 견인측에서는 골형성을 야기한다¹⁾는 이론은 일반적으로 받아들여지고 있다.

1911년 Oppenheim²⁾을 선두로 Schwartz³⁾, Reitan⁴⁾, Storey⁵⁾는 치아이동에 의한 치주조직의 형태학적 변화에 대한 연구를 통해, 교정력이 치조골세포의 기질과 기능에 변화를 일으킨다고 보고하였으며, 치아이동시 압박측 치주조직의 미세구조에 관하여는 Rygh^{6,7)}, Kvam^{8,9)}, Kurihara¹⁰⁾, Hirashita¹¹⁾가 초자양 변성조직 및 조골세포와 파골세포를 관찰한 바 있다.

King 등¹²⁾은 백서의 이동된 치아 주위조직

추출물이 배양중인 태자골의 흡수를 촉진시킴을 관찰하여 골흡수가 화학적 중재에 의한다고 보고하였고, Yamasaki^{13,14)}, 이¹⁵⁾는 prostaglandin이 치아이동에 미치는 영향에 관하여, Bassett¹⁶⁾, Zengo¹⁷⁾, 김 등^{18,19)}은 외인성 전류가 치조골에 미치는 영향에 관하여, Murad²⁰⁾, Davidovitch²¹⁾, 안²²⁾은 cyclic AMP에 관하여, Karjalainen²³⁾, Nilsson²⁴⁾, 김²⁵⁾은 치아이동에 따른 골조직의 무기질 함량에 관하여 연구한 바 있다.

골조직은 흡수와 형성이 항상 일어나는 동적 기관으로서, 골조직이 흡수되는 과정에서 칼슘과 인 등 무기성분이 조직외로 이탈하고 collagen을 비롯한 유기성분의 파괴가 일어나며, 이때 파골세포로부터 유리되는 산성인산분해효소(acid phosphatase, ACP)와 교원분해효소(collagenase)가 무기성분 및 유기성분을 파괴하는 대표적인 효소로 작용한다. 또한 골조직이 형성될 때는 collagen 등의 유기성분이 형성되고, 뒤이어 칼슘과 인 등의 무기이온이 침착되는 과정에서 염기성인산분해효소(alkaline phosphatase, ALP)가 중요한 효소로 작용하는 것으로 알려져 있다²⁶⁻³²⁾.

Takimoto³³⁾는 백서의 실험적 치아이동시 ACP와 ALP의 조직화학적 연구를 통하여, 압박측 치주인대의 ALP활성이 감소되었으며 치주인대의 ACP는 치아이동에 의해 크게 변화

되지 않는다고 보고하였다.

백서 하악골 관절연골에 압박력을 가하여 ACP와 ALP 활성을 관찰한 Copray³⁴⁾는 두 효소가 관절 연골아세포활성의 대표적 효소이며, 지속적 교정력은 연골의 모든 부위에서 두 효소를 균일하게 감소시켰고 간헐적 교정력으로는 ALP 활성이 증가되었다고 보고하였다. 한편 백서 하악골을 전방이동시켜 교원분해효소와 인산분해효소(phosphatase)의 활성을 관찰한 Bollen 등³⁵⁾의 연구에서는 교원분해효소의 활성이 전형적으로 근육부착부위에서 증가되었고, 실험 4주군에서 교원분해효소와 ALP 활성이 정상 수치로 회복되었다고 보고한 바 있다.

Ozaki³⁶⁾는 토끼의 치아이동에서 교원분해효소의 활성을 관찰한 바, 혈관과 파골세포가 풍부한 육아조직의 침착과 밀접한 관련성을 가지며 힘을 가한 7일에 압박측에서 활성이 가장 높게 나타났다고 보고하였다.

McPartlin³⁷⁾은 부갑상선호르몬에 의한 백서 두개골의 ALP 활성변화를 관찰하였고, 비타민 D가 ACP 및 ALP 활성에 미치는 영향에 관해 많은 연구가 이루어졌으며³⁸⁻⁴⁰⁾, 그 밖에 ascorbic acid⁴¹⁾와 성장인자⁴²⁾에 의한 효소활성 변화를 연구한 보고가 있었다.

본 연구에서는 교정력을 가했을 때 압박측과 견인측에서 ACP, ALP 및 교원분해효소의 활성도를 측정함으로써 교정력에 의한 골조직의 형성과 흡수에 있어서 이들 효소의 역할을 알아보고자 본 실험을 시행하였다.

II. 연구재료 및 방법

1. 교정장치 및 골조직의 적출

평균체중 3.4kg의 성숙한 웅성 집고양이 16마리를 대조군과 12시간, 24시간, 36시간, 2일, 3일, 5일 및 7일의 실험경과군으로 구분하여 각 군에 2마리씩 배정하였으며 상악 좌우측의 견치를 이용하였다.

실험군에서 교정장치를 장착하기 위하여 체중 kg당 ketamine 15mg을 근육주사하여 전신 마취시킨 후 micromotor를 이용하여 상악 좌

우견치 및 제 3 소구치의 치경부를 따라 환형의 홈을 형성한 다음, closed coil spring(0.009"×0.036", Rocky Mountain Orthodontic Co., USA)을 결찰하여 협측에 고정하였으며, stress and tension gauge(Dentaurum Co., Germany)를 이용하여 약 80g²¹⁾의 초기교정력이 견치의 원심방향으로 발휘되도록 하고 실험 기간동안 재조정하지 않았다(Figure 1).

각 군별로 실험동물을 마취하여 희생시키고, 상악 좌우견치를 포함한 상악골을 즉시 절단하여 냉각된 생리식염수로 세척한 후 액체질소로 급속냉동시켰다. 냉동된 상악골에서 견치주위의 연조직을 제거하고 압박측은 원심치조정에서, 견인측은 근심치조정에서 골감자로 습중량 약 40mg의 치조골을 채취하여 -70°C에 보관하였다.

2. 골조직으로부터 효소의 추출

적출한 압박측 및 견인측의 치조골을 액체질소하에서 분쇄한 후, 효소를 추출하기 위하여 10mM Tris-HCl 완충액(pH 7.4, Sigma Co., USA) 0.5ml를 분쇄된 치조골에 넣고 4°C로 24시간동안 교반하였다.

이 완충액을 4°C에서 10분간 1,500×g로 원심분리하여 골분말을 침전시킨 후 상청액을 얻어 효소활성 측정 및 단백질 정량에 이용하였으며, 효소액은 사용할 때까지 -70°C에 보관하였다.



Fig. 1. Experimental appliance. Both upper canines were moved distally with closed coil springs.

3. ACP와 ALP의 효소활성 측정

ACP와 ALP의 활성을 측정하기 위하여 p-nitrophenol phosphate(PNPP, Sigma)를 기질로 일정량의 효소액을 첨가하여 37°C에서 30분간 반응시킨 후, 각각의 효소에 의해 기질로부터 유리되어 나오는 p-nitrophenol(PNP)을 Spectrophotometer(UV-120-02, Shimadzu)를 이용하여 비색정량하였다.

이때 ACP의 활성측정을 위해서 pH 4.8인 0.1M sodium citrate(Sigma) 완충액에서, ALP는 pH 10.3인 0.1M Glycine-NaOH(Sigma) 완충액에서 효소를 반응시켰으며, 단백질은 bovine serum albumin(Sigma, fraction V)을 표준용액으로 이용하여 Lowry 등⁴³⁾의 방법으로 정량하였다.

각각의 효소활성도는 효소액의 단백질 mg당 기질로부터 유리되어 나온 PNP의 농도(nmole substrate cleaved/h/mg protein)로 표시하였으며 Student's t-test를 이용하여 통계처리하였다.

4. 교원분해효소의 효소활성 측정

교원분해효소의 효소활성측정은 Collagenase Assay System(New England Nuclear)을 이용하여 주어진 술식에 의해 다음과 같이 시행하였다.

10 μ l의 [³H]-rat tail tendon type I collagen을 80 μ l의 5mM CaCl₂가 포함된 20mM Tris-HCl 완충액(pH 7.6)내에서 2시간 동안 4°C에서 배양하여 collagen fibril을 형성시켰다. 형성된 collagen fibril에 10 μ l의 효소액을 넣어 21°C에서 24시간동안 효소작용시킨 후 4°C에서 12,000 \times g로 10분간 원심분리하였다.

원심분리 후 상청액의 10 μ l를 취하여 cocktail solution에 혼합한 후 Liquid Scintillation Counter(Beckman, LS 5000 TA)로 ³H의 양을 측정함으로써 효소액중의 교원분해효소에 의해 collagen fibril로부터 분해되어 나온 soluble collagen의 양을 cpm으로 측정하였다.

각 시료의 효소활성은 효소액의 단백질 mg당 cpm으로 표시하였으며, Student's t-test를 이용하여 통계처리하였다.

III. 연구성적

교정장치 후 시간경과에 따른 ACP는 압박측과 견인측 모두에서 대조군에 비해 높은 활성도를 보였으나 압박측인 경우 대조군에 비해 2배 이상의 지속적인 효소활성 증가를 보인 반면 견인측에서는 36시간 이후부터 감소하는 추세를 보였다. 압박측인 경우 24시간, 36시간 및 7일째에 유의성있는 ACP활성의 증가를 보였을 뿐 아니라 견인측에서도 24시간 경과군에서 유의한 증가를 보여 교정력에 의한 치아주위 조직세포의 활성도가 전반적으로 증가된 듯한 양상을 보였다(Table 1 및 Figure 2).

ALP인 경우 압박측보다 견인측에서 대조군

Table 1. Changes of ACP and ALP activities in pressure and tension sides of alveolar bones

Group	Side	nmole substrate cleaved/h/mg protein	
		ACP	ALP
Control	D	40.38 \pm 4.54	569.49 \pm 125.07
	M	40.29 \pm 3.81	424.82 \pm 119.95
12 hrs	P	93.88 \pm 33.45	704.84 \pm 116.04
	T	80.40 \pm 20.23	684.36 \pm 163.91
24 hrs	P	110.89 \pm 25.40*	692.85 \pm 23.55
	T	81.97 \pm 9.80*	980.57 \pm 70.06*
36 hrs	P	80.78 \pm 6.92**	673.72 \pm 82.32
	T	92.96 \pm 22.70	850.43 \pm 119.97
2 days	P	102.90 \pm 25.65	526.33 \pm 6.61
	T	72.96 \pm 12.87	796.73 \pm 220.66
3 days	P	90.63 \pm 33.20	450.80 \pm 74.78
	T	55.91 \pm 4.64	551.92 \pm 49.52
5 days	P	92.45 \pm 19.07	776.33 \pm 218.22
	T	59.10 \pm 13.49	676.52 \pm 217.49
7 days	P	92.53 \pm 10.71*	933.55 \pm 30.32
	T	72.40 \pm 14.80	857.16 \pm 115.73

Values are Mean \pm S.E. (n = 2-4).

* : p < 0.05, compared to control.

** : p < 0.01, compared to control.

D : Distal side. M : Mesial side.

P : Pressure side. T : Tension side.

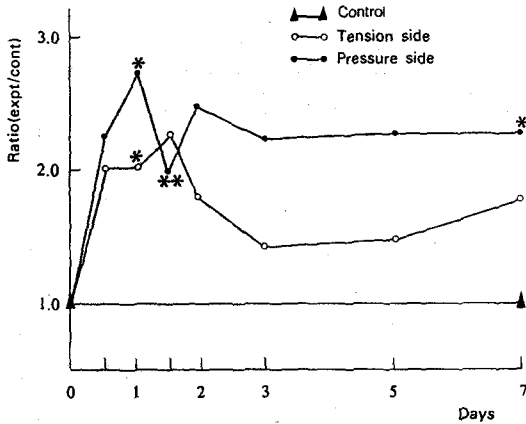


Fig. 2. Time course of ACP activity changes in pressure and tension sides of alveolar bones.

* : $p < 0.05$, compared to control.
** : $p < 0.01$, compared to control.

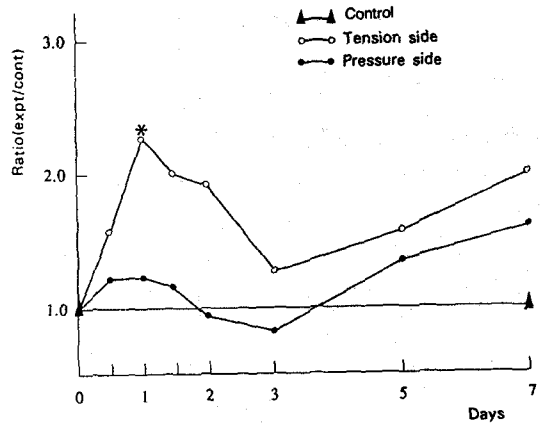


Fig. 3. Time course of ALP activity changes in pressure and tension sides of alveolar bones.

* : $p < 0.05$, compared to control.

Table 2. Changes of collagenase activities in pressure and tension sides of alveolar bones

Group	Side	Enzyme activity (cpm)
Control	D	1377 ± 129
	M	1274 ± 153
12 hrs	P	1434 ± 239
	T	1324 ± 293
24 hrs	P	1843 ± 198
	T	2129 ± 229*
36 hrs	P	2264 ± 242*
	T	1837 ± 320
2 days	P	1695 ± 333
	T	1529 ± 479
3 days	P	1668 ± 304
	T	1555 ± 135
5 days	P	3596 ± 379**
	T	1808 ± 784
7 days	P	2952 ± 210*
	T	2024 ± 455

Values are Mean ± S.E. (n = 2.4).

* : $p < 0.05$, compared to control.

** : $p < 0.01$, compared to control.

D : Distal side. M : Mesial side.

P : Pressure side. T : Tension side.

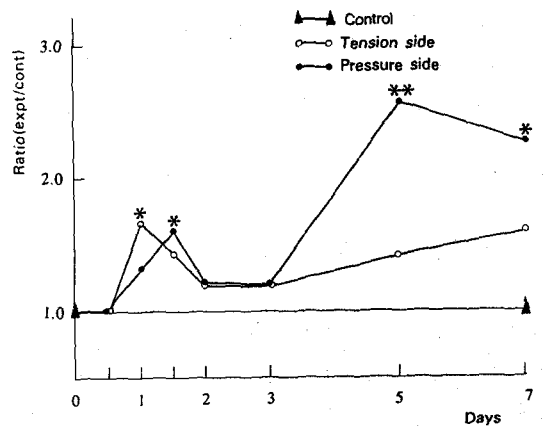


Fig. 4. Time course of collagenase activity changes in pressure and tension sides of alveolar bones.

* : $p < 0.05$, compared to control.

** : $p < 0.01$, compared to control.

에 비해 활성이 증가되었으며 특히 초기경과군에 있어서 활성도가 증가하는 경향을 보였고 24시간경과군에서 유의성있는 증가를 보였다 (Table 1 및 Figure 3).

교정장치 후 교원분해효소 활성도의 시간경과에 따른 변화는 Table 2. 및 Figure 4.와 같으며 양측 모두 전반적으로 증가하는 양상을 보였다. 압박측인 경우 36시간, 5일 및 7일 경과군에서 유의한 증가를 보였고 견인측에서도 24시간 경과군에서 유의한 증가를 보였다.

IV. 고 찰

교정장치는 치아를 통해서 치주조직에 힘을 전달함으로써 치아이동의 목적을 달성한다고 볼 수 있다. 이러한 교정력은 기존의 생물학적인 상태를 변화시켜 치아를 새로운 위치로 이동시키며, 치아는 새로운 위치에서 다시 역학적인 평형상태를 이룬다. 이러한 1차원인인 역학적인 힘과 최종효과인 치아이동 사이에는 중요한 생물학적인 과정이 중재하는 것으로 알려져 있다⁴⁴⁾. Noyes⁴⁵⁾는 치아에 가해진 기계적인 힘은 조직내의 생체반응을 유도하는 생물학적인 자극으로 사용된다고 하였으며, 이러한 이유에서 치아이동에 따르는 생물학적인 반응의 정확한 양상은 교정치료에 있어서 중요한 이론적 관심사라 할 수 있다.

교정적 치아이동시의 조직학적 변화로는 혈관손상, 대식세포 침윤, 섬유형태 변화 등의 조직파괴 양상이 나타나며^{5,6,46,47)}, 이동된 치아 주위 조직의 추출액이 배양중인 태자골의 흡수를 촉진시킨다는 것은 치아이동에 생화학적 중재가 이루어지고 있음을 추측케 한다¹²⁾.

ALP는 조직내 장점막, 태반, 신장, 골 등에 분포하며, 특히 골조직에서는 비대연골세포, 조골세포, 골세포에서 발견된다. 이 효소는 영양분의 운반과 관련된 조직내에 풍부하며, 가끔 분비기관이나 발육중인 조직에도 나타나나 근육이나 성숙된 결합조직, 비화골성 연골, 적혈구에는 거의 존재하지 않는다. 이에 반해 ACP는 여러 조직내에 폭넓게 분포하는 것으로 알려져 있다⁴⁸⁾. Bourne⁴⁹⁾에 의하면 ALP는 대부분 골기질을 합성하는 세포 즉 조골세포내에 존재하며, ACP는 골과 연골의 기질형성 부위에서 발견되고⁵⁰⁾ 불안정하여 물리적 화학적 자극에 의해 쉽게 불활성화된다⁵¹⁾.

ACP와 ALP의 생리적 역할은 아직 잘 알려져 있지 않고 몇 가지 가설이 주장되고 있는데, ALP는 골형성과 석회화의 징후이며⁵²⁾, 골형성 세포와 관련하여 골형성 과정에 참여한다^{53,54)}. 그러나 Vilmann⁵⁵⁾은 ALP와 골침착과의 관계는 불확실하다고 하였으며, 세포배양에서 ALP가 감소된 것이 세포증식의 증가와 관

련성을 가진다고 주장한 보고⁵⁶⁾도 있다. ACP는 석회화 전단계의 세포의 기질파괴와 관련이 있으며⁵⁰⁾, 보통 골파괴 세포와 관련하여 언급되고 골형성 세포에서도 발견되나 극히 미미하다⁵⁴⁾.

Susi⁵⁷⁾의 연구에 따르면, 부갑상선호르몬 추출액에 노출되어 활발히 흡수가 진행되는 두개관에서 ACP 활성이 높게 나타나 배양 5일째 최고치를 이루었는데, 이러한 결과들이 파골세포, ACP, 그리고 골흡수관계를 뒷받침해 준다고 주장하였다. 본 연구에서는 압박측에서 24시간 및 36시간 경과군에서 ACP활성의 유의한 증가를 보여 교정력이 가해진 후 주로 초기단계에서 증가하는 결과를 보였다(Figure 2). 이러한 결과는 파골세포의 골흡수에 있어서 용해소체효소의 유리와 밀접한 관계를 가진다는 Eilon과 Raisz⁵⁸⁾의 보고와 일치하며, 교정력에 의해 파골세포가 활성화된 후 이로부터 용해소체내의 대표적 효소인 ACP의 유리가 초기경과군에서 증가된 것으로 보인다.

Takimoto³⁹⁾는 백서를 이용하여 치아이동을 시킨 후 치주조직의 ACP와 ALP를 조직화학적으로 관찰하여 치아이동후의 생물학적인 변화와 억제된 대사활동때문에 압박측 치주인대의 ALP 활성이 감소되었고, ACP는 치아이동에 의해 크게 변화되지 않는다고 보고하였다. 본 연구에서는 ACP가 압박측과 견인측에서 비교적 뚜렷한 차이를 보이고 있어 치조골과 치주인대의 효소활성 차이를 나타내고 있으며 압박측과 견인측의 ACP활성이 대조군에 비해 전반적으로 높은 것으로 보아 교정력이 치아주위 조직세포를 활성화시킨 것으로 생각된다(Figure 2).

백서 두개골에서 골성장과 ALP 및 ACP 활성간의 관계를 연구한 Vilmann⁵⁵⁾에 의하면 ALP는 골침착과 흡수에 특이성을 보이지 않으며 ACP는 골흡수 부위에서 현저한 활성을 나타낸다고 보고하여 ACP 활성은 본 연구결과와 일치함을 보이고 있으나 ALP인 경우는 견인측의 실험초기 특히 24시간 경과군에서 유의한 증가를 보여 상이한 결과를 얻었으며, 이러한 증가는 골조직형성에 관여할 것으로 사료된

다(Figure 3).

ALP는 세포막과 세포내 이중막에 위치하여 유기인산화합물로부터 인산기를 유리시켜 골조직에 공급하는 역할을 하는 것으로 알려져 있으며, 본 연구에서 압박측의 ACP 활성도가 초기에 증가하는 것과 연관지어 볼 때 교정력에 의한 치아이동시 골조직 무기성분의 대사는 주로 초기에 활발히 일어나는 것으로 생각된다.

압박측과 견인측에서 ACP, ALP 및 교원분해효소의 시간경과에 따른 효소 활성도의 변화는 각각 Figure 5. 및 Figure 6.과 같으며 ALP의 활성도가 ACP보다 전반적으로 높게 나타났다.

Collagen은 인체에서 가장 광범위하게 분포되어 있는 단백질이며, 치아와 지지조직의 주된 성분을 이룬다⁵⁹. 지지조직의 collagen은 치주질환에 의해 파괴되기 쉬우므로 최근에는

치주조직의 collagenolytic enzyme에 관심이 높아지고 있다.

교원분해효소는 collagen의 helical region에 위치한 peptide bond를 파괴시키는 효소로서 2 가지 형태로 나뉘어지는데, 그 하나는 세균성교원분해효소(bacterial collagenase)로서 Clostridium histolyticum에서 유래되며 200곳 이상에서 collagen의 polypeptide chain을 분해한다. 또 하나는 조직성교원분해효소(tissue collagenase)로서 최초로 울챙이 꼬리에서 발견되었는데, 포유류와 양서류의 성장과 재형성 조직에서 추출되며 빠른 reorganization을 보이는 포유류조직에서 활성이 높게 나타난다⁶⁰. 교원분해효소는 사람 치은의 조직배양액에서도 발견되며⁶¹⁻⁶⁵, 교원분해효소를 합성분비하는 세포의 기원은 알려져 있지 않지만, Gross⁶⁶에 따르면 상피세포가 울챙이 꼬리의 배양액에서 나타나는 교원분해효소를 형성한다. Fullmer⁵⁹

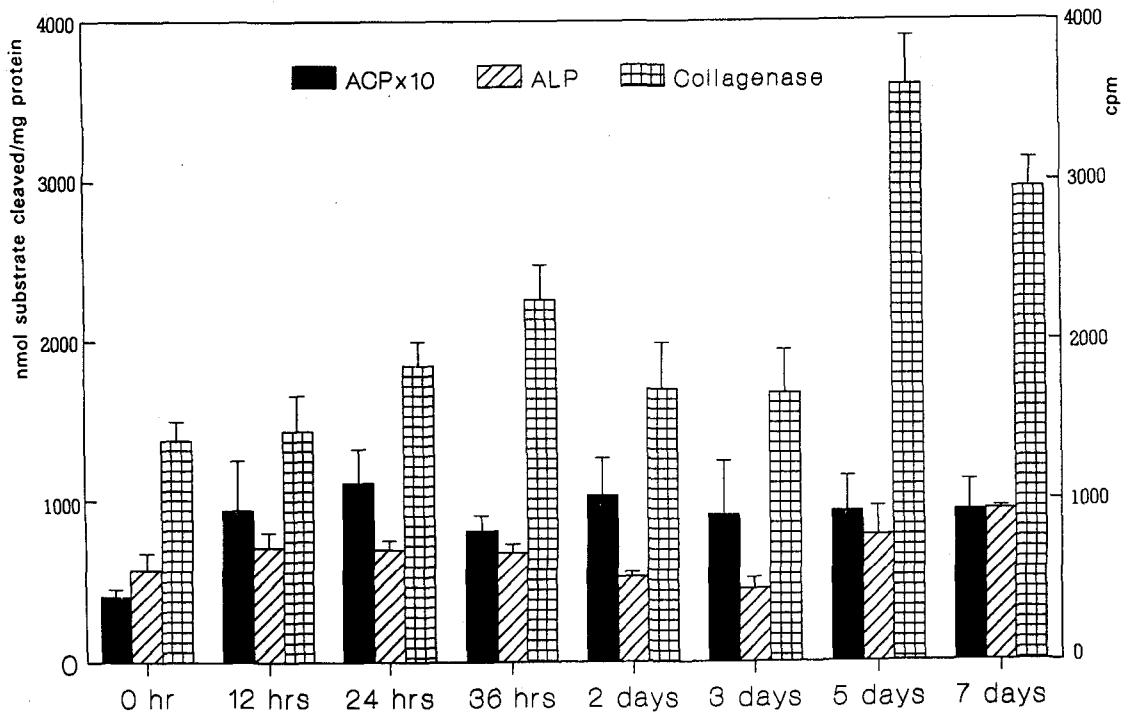


Fig. 5. Changes of ACP, ALP and collagenase activities in pressure side of alveolar bones.

는 인간 치주조직에서의 교원분해효소 기원에 관한 연구에서 교원분해효소는 치은의 상피세포와 결합조직세포에 의해 형성되며, collagen은 이러한 치은에서 유래된 교원분해효소에 의해 1/4과 3/4으로 분해된다고 하였다.

교원분해효소의 골흡수 관련여부는 배양된 백서태자 두개관에서 추출된 procollagenase를 분석함으로써, 또한 골내의 collagen을 파괴시키는 능력을 평가함으로써 조사연구되어 왔다⁶⁷⁾. 교원분해효소는 골내의 non-mineralized collagen의 파괴에 관여하며, Horton 등⁶⁸⁾은 교원분해효소 억제제(collagenase inhibitor)가 골흡수를 억제하였다고 보고하였다.

Ozaki³⁶⁾는 토끼의 하악 전치와 구치사이에서 고무줄로 교정력을 가하여 collagenolytic activity를 관찰하여 교원분해효소 활성이 육아조직의 침착과 밀접한 관련성이 있음을 언급하였고, 실험 7일군의 압박측에서 활성이 가장 높게 나타났으며 본 연구에서는 실험 5일군에

서 최고치를 이루어 압박측의 36시간, 5일 및 7일 경과군에서 유의성있는 증가를 보임과 동시에 대체적으로 실험후기에 비교적 높은 활성도가 나타나는 점에서 유사한 결과를 보였다. 또한 교원분해효소인 경우도 양측 모두 대조군에 비해 대체적으로 증가하는 경향을 보여 교정력에 의해 세포의 활성도가 증가되는 것으로 생각된다(Figure 4).

백서 하악골을 전방이동시켜 효소활성을 관찰한 Bollen의 연구에서는³⁵⁾ 근육부착부위에서의 교원분해효소활성 증가가 전방이동장치에 의해 유도된 신경근육변화의 결과라고 하였고, 실험 4주군에서 교원분해효소와 ALP 활성이 정상수치로 회복된 것은 새로운 생화학적 환경에 대한 근육의 적응으로 풀이하고 있다.

본 실험에서는 실험기간을 7일로 제한하여 생체의 적응 여부나 이 후의 효소활성도의 변화는 관찰할 수 없으나 일반적으로 골조직 내에서 무기성분대사에 관여하는 ACP와 ALP의

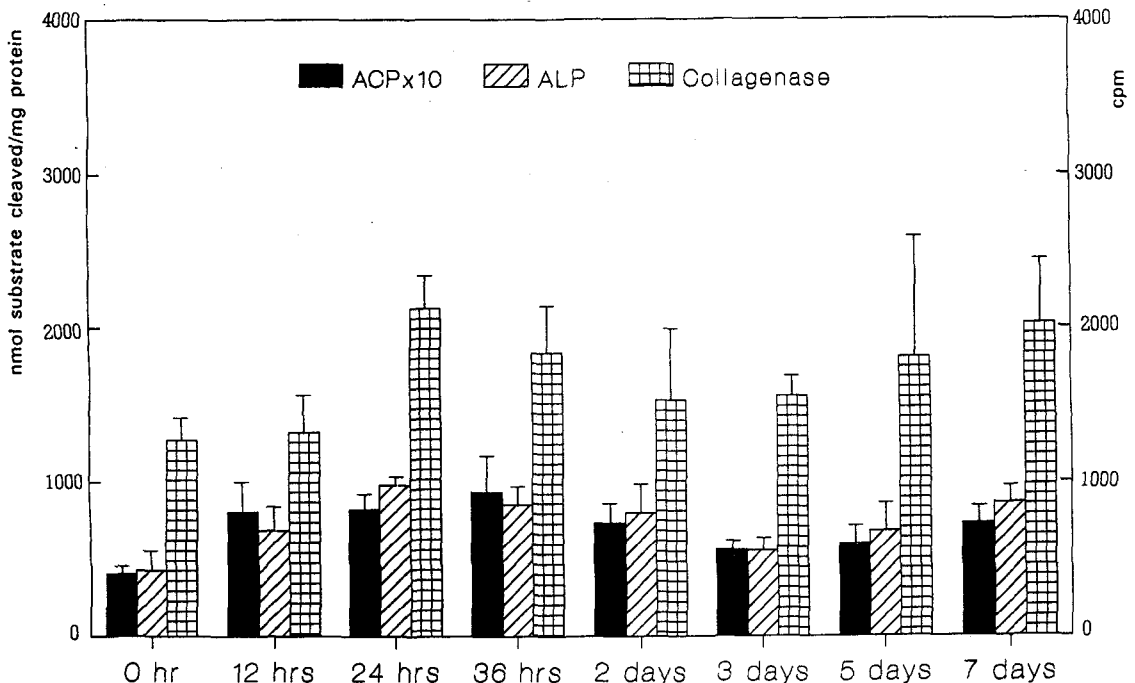


Fig. 6. Changes of ACP, ALP and collagenase activities in tension side of alveolar bones.

활성도가 실험초기경과군에서 증가된 반면 유기성분의 대표적인 물질인 collagen의 대사에 있어서는 실험 후기경과군에서 증가를 보여 골조직대사에서 무기성분 및 유기성분의 생성과 파괴에 있어서 시간적 차이가 있을 것으로 사료된다.

V. 결 론

교정력이 치조골의 ACP, ALP 및 교원분해효소의 활성에 미치는 영향을 관찰하기 위하여 성숙한 집교양이의 상악 좌우측 견치에 교정력을 가한 후 12시간, 24시간, 36시간, 2일, 3일, 5일 및 7일 경과 후 희생시켜 골조직을 적출하였으며, 추출한 효소액에서 각각의 효소활성을 측정하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. ACP, ALP 및 교원분해효소는 교정력에 의해 전반적으로 증가하는 경향을 보였다.
2. ACP와 교원분해효소의 활성도는 압박측에서 증가하는 경향을 보였고, ALP는 견인측에서 증가하는 경향을 보였다.
3. ACP와 ALP의 활성도는 교정력이 가해진 후 초기에 증가하는 경향을 보인 반면, 교원분해효소는 실험후기에 증가하는 경향을 보였다.

이상의 결과에서 치조골에 교정력이 가해졌을 경우의 골조직대사에서는 무기성분 및 유기성분의 생성과 파괴에 시간적 차이가 있음을 알 수 있었다.

REFERENCES

1. Macapanpan L.C., Weinmann J.P. and Brodie, A.G.: Early tissue changes following tooth movement in rats. *Angle Orthod.* 24:79-95, 1954.
2. Oppenheim, A.: Tissue changes, particularly in the bone, incident to tooth movement.

- Am. J. Orthod. 3:56-57, 1911.
3. Schwartz, A.M.: Tissue changes incident to orthodontic tooth movement. *Int. J. Orthod.* 18:331-352, 1932.
4. Reitan, K.: Effects of force magnitude and direction of tooth movement on different alveolar bone types. *Angle Orthod.* 34:244-255, 1964.
5. Storey, E.: The nature of tooth movement. *Am. J. Orthod.* 63:292-314, 1973.
6. Rygh, P.: Ultrastructural changes in pressure zones of human periodontium incident to orthodontic tooth movement. *Acta Odont. Scand.* 31:109-122, 1973.
7. Rygh, P.: Elimination of hyalinized periodontal tissues associated with orthodontic tooth movement. *Scand. J. Dent. Res.* 82:57-73, 1974.
8. Kvam, E.: Cellular dynamics on the pressure side of the rat periodontium following experimental tooth movement. *Scand. J. Dent. Res.* 80:369-383, 1972.
9. Kvam, E.: Organic tissue characteristics on the pressure side of human premolars following tooth movement. *Angle Orthod.* 43:18-23, 1973.
10. Kurihara, S.: An electron microscopic observation on cells found in bond resorption area incident to experimental tooth movement. *Bull. Tokyo Med. Dent. Univ.* 24:1-21, 1977.
11. Hirashita, A.: The aspect of ultrastructural changes of the osteoblasts and surface areas of alveolar bone appearing in experimental tooth movement. *Bull. Tokyo Med. Dent. Univ.* 23:245-260, 1976.
12. King, G.J. and Thiems, S.: Chemical mediation of bone resorption induced by tooth movement in the rat. *Archs Oral Biol.* 24:811-815, 1979.

13. Yamasaki, K., Shibata, Y. and Fukuhara, T.: The effect of prostaglandins on experimental tooth movement in monkeys. *J. Dent. Res.* 61:1444-1446, 1982.
14. Yamasaki, K., Shibata, Y., Imai, S., Tani, Y., Shibasaki, Y. and Fukuhara, T.: Clinical application of prostaglandin E₁ upon orthodontic tooth movement. *Am. J. Orthod.* 85:508-518, 1984.
15. 이강희, 서정훈 : Prostaglandin E₂가 치아 이동과 치근흡수에 미치는 영향에 관한 연구. *대치교지* 19 : 25-36, 1989.
16. Bassett, C.A.L., Pawluk, R.J. and Becker, R.O.: Effects of electric currents on bone in vitro. *Nature* 204:652-654, 1964.
17. Zengo, A.N., Bassett, C.A.L., Pawluk, R.J. and Proutzos, G.: In vivo bioelectric potentials in the dentoalveolar complex. *Am. J. Orthod.* 66:130-139, 1974.
18. 김영복, 이종훈, 양원식 : 외인성전류가 고양이 치조골의 cyclic nucleotides에 미치는 영향에 관한 연구. *대치교지* 14 : 187-202, 1984.
19. 김종태, 김중수, 양원식 : 교정력 및 외인성 전류가 고양이 치조골의 prostaglandin E₂에 미치는 영향에 관한 연구. *대치교지* 14 : 203-216, 1984.
20. Murad, F., Brewer, Jr. H.B. and Vaughn, M.: Effect of thyrocalcitonin on adenosine 3'5'-cyclic phosphate formation by rat kidney and bone. *Proc. Natn. Acad. Sci. U.S.A.* 65:446, 1970.
21. Davidovitch, Z. and Shanfeld, J.L.: Cyclic AMP levels in alveolar bone of orthodontically-treated cats. *Archs Oral Biol.* 20: 567-574, 1975.
22. 안대식, 이종훈, 양원식 : 교정력에 의한 치조골의 cyclic AMP에 관한 연구. *대치교지* 11 : 7-15, 1981.
23. Karjalainen, P. and Alhava, E.M.: Bone mineral content of the forearm in a healthy population. *Acta Radiol.* 16:199, 1977.
24. Nilsson, B.E. and Westline, N.E.: Bone mineral content in the forearm after fracture of the upper limb. *Calcif. Tissue Res.* 22:329, 1977.
25. 김혜경, 이종훈, 양원식 : 교정력에 의한 고양이 치조골의 칼슘 및 인의 분포에 관한 연구. *대치교지* 11 : 17-24, 1981.
26. Vaes, G.: On the mechanism of bone resorption. The action of parathyroid hormone on the excretion and synthesis of lysosomal enzymes and on the extracellular release of acid by bone cells. *J. Cell Biol.* 39:676-697, 1968.
27. Lerner, U. and Gustafson, G.T.: Inhibitory effect of dibutyryl cyclic AMP on the release of calcium, inorganic phosphate and lysosomal enzymes from calvarial bones cultured for 24 hours. *Acta Endocrinol.* 91:730-736, 1979.
28. Sakamoto, S., Sakamoto, M., Goldhaber, P. and Glimcher, M.: Collagenase and bone resorption: Isolation of collagenase from culture medium containing serum after stimulation of bone resorption by addition of parathyroid hormone extract. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 63:172-178, 1975.
29. Kreitzman, S.N. and Fritz, M.E.: Enzymatic destruction of bone in vitro. *Nature* 228: 575-576, 1970.
30. Thomas, M.L. and Ramp, W.K.: Effect of parathyroid hormone on alkaline phosphatase activity and mineralization of cultured chick embryo tibiae. *Calcif. Tissue Int.* 27: 137-142, 1979.
31. Majeska, R.J. and Rodan, G.A.: The effect of 1,25(OH)₂D₃ on alkaline phosphatase in osteoblastic osteosarcoma cells. *J. Biol. Chem.* 257:3362-3365, 1982.

32. Osdoby, P. and Caplan, A.I.: Characterization of a bone-specific alkaline phosphatase in chick limb mesenchymal cell cultures. *Dev. Biol.* 86:136-146, 1981.
33. Takimoto, K., Deguchi, T. and Mori, M.: Histochemical detection of acid and alkaline phosphatases in periodontal tissues after experimental tooth movement. *J. Dent. Res.* 42:1373, 1963.
34. Copray, J.C.V.M., Jansen, H.W.B. and Duterloo, H.S.: Effect of compressive forces on phosphatase activity in mandibular condylar cartilage of the rat in vitro. *J. Anat.* 140:479-489, 1985.
35. Bollen, A.M., Makinen, K.K., Makinen, P.L. and Carlson D.S.: Collagenolytic and phosphatase activity in the rat mandible after functional protrusion. *Archs Oral Biol.* 34:267-273, 1989.
36. Ozaki, T.: Collagenolytic activity during tooth movement in rabbits. *Bull. Tokyo Med. Dent. Univ.* 18:319-337, 1971.
37. McPartlin, J., Skrabanek, P. and Powell, D.: Early effects of parathyroid hormone on rat calvarian bone alkaline phosphatase. *Endocrinology* 103:1573-1578, 1978.
38. Hammarstrom, L.E., Ramp, W.K. and Toverud, S.U.: Histochemistry of various acid phosphatases in developing bones and teeth in hypervitaminosis D in the rat. *Archs Oral Biol.* 18:109-115, 1973.
39. Toverud, S.U. and Hammarstrom, L.E.: Quantitative studies on acid phosphatase in developing rat bones and teeth during hypervitaminosis D. *Archs Oral Biol.* 20: 175-181, 1975.
40. Mulkins, M.A., Manolagas, S.C., Deftos L.J. and Sussman, H.H.: 1,25-dihydroxyvitamin D₃ increases bone alkaline phosphatase isoenzyme levels in human osteogenic sarcoma cells. *J. Biol. Chem.* 258:6219-6225, 1983.
41. Sugimoto, T., Nakada, M., Fukase, M., Imai, Y., Kinoshita, Y. and Fujita, T.: Effects of ascorbic acid on alkaline phosphatase activity and hormone responsiveness in the osteoblastic osteosarcoma cell line UMR-106. *Calcif. Tissue Int.* 39:171-174, 1986.
42. Canalis, E.: Effect of hormones and growth factors on alkaline phosphatase activity and collagen synthesis in cultured rat calvariae. *Metabolism* 32:14-20, 1983.
43. Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L. and Randall, R.J.: Protein measurement with folin-phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193:265-275, 1951.
44. Baumrind, S. and Buck, D.L.: Rate changes in cell replication and protein synthesis in the periodontal ligament incident to tooth movement. *Am. J. Orthod.* 57:109-131, 1970.
45. Noyes, F.: Histology of bone related to orthodontic treatment. *Am. J. Orthod. & Oral Surg.* 28:760, 1942.
46. Rygh, P.: Ultrastructural vascular changes in pressure zones of rat molar periodontium incident to orthodontic movement. *Scand. J. Dent. Res.* 80:307-321, 1972.
47. Reitan, K.: Current orthodontic concepts and techniques. 2nd Ed. (Edited by Graber T.M. and Swain B.F.). Vol. I. Chap. 2. pp. 111-229. W.B. Saunders, Philadelphia, 1975.
48. Boyer, P.D.: The enzymes. 3rd Ed. Vol. 4, chap. 18, pp. 417-498, Academic press, New York, 1971.
49. Bourne, G.: In the biochemistry and physiology of bone, p. 251, Academic Press, New York. 1956.

50. Nilsen, R. and Magnusson, B.C.: Enzyme histochemical studies of induced heterotopic cartilage and bone formation in guinea pigs with special reference to acid phosphatase. *Scand. J. Dent. Res.* 89:491-498, 1981.
51. Vaes, G. and Jacques, P.: Studies on bone enzymes. *Biochem. J.* 97:380-388, 1965.
52. Reddi, A.H. and Huggins, C.: Biochemical sequences in the transformation of normal fibroblasts in adolescent rats. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 69:1601-1605, 1972.
53. Farley, J.R. and Baylink, D.J.: Skeletal alkaline phosphatase activity as a bone formation index in vitro. *Metabolism* 35:563-571, 1986.
54. Fullmer, H.M.: Enzymes in mineralized tissues. *Clin. Orthop. Rel. Res.* 48:285-295, 1966.
55. Vilmann, H.: Phosphatases and bone growth. *Scand. J. Dent. Res.* 85:302-304, 1977.
56. Carpenter, G.: Vanadate, epidermal growth factor, and the stimulation of DNA synthesis. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 102:1115-1121, 1981.
57. Susi, F.R., Goldhaber, P. and Jennings, J.M.: Histochemical and biochemical study of acid phosphatase in resorbing bone in culture. *Am. J. Physiol.* 211:959-962, 1966.
58. Eilon, G. and Raisz, L.G.: Comparison of the effects of stimulators and inhibitors of resorption on the release of lysosomal enzymes and radioactive calcium from fetal bone in organ culture. *Endocrinology* 103:1969-1975, 1978.
59. Fullmer, H.M., Gibson, W.A., Lazarus, G.S., Bladen, H.A. and Whedon, K.A.: The origin of collagenase in periodontal tissues of man. *J. Dent. Res. Suppl.*, 48:646-651, 1969.
60. Stryer, L.: *Biochemistry*. chap. 9, Freeman and Toppan Co. 1975.
61. Fullmer, H.M.: Histochemical studies of the periodontium. *J. Dent. Res.* 45:469-477, 1966.
62. Fullmer, H.M. and Gibson, W.A.: Collagenolytic activity in the gingiva of man. *Nature*. 209:728-729, 1966.
63. Gibson, W.A. and Fullmer, H.M.: Collagenolytic activity of gingival tissues in vitro. *J. Dent. Res.* 45:1225, 1966.
64. Bennick, A. and Hunt, A.M.: Collagenolytic activity in oral tissues. *Archs Oral Biol.* 12:1-9, 1967.
65. Beutner, E.H., Triftshauser, C. and Hazen, S.P.: Collagenase activity of gingival tissue from patients with periodontal diseases. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 121:1082-1085, 1966.
66. Gross, J. and Lapiere, C.M.: Collagenolytic activity in amphibian tissues: A tissue culture assay. *Proc. Natn. Acad. Sci.* 48:1014-1022, 1962.
67. Delaisse, J.M., Eeckhout, Y. and Vaes, G.: Bone-resorbing agents affect the production and distribution of procollagenase as well as the activity of collagenase in bone tissue. *Endocrinology* 123:264-276, 1988.
68. Horton, J.E., Wezemann, F.H. and Kuettner, K.E.: Inhibition of bone resorption in vitro by a cartilage derived anti-collagenase factor. *Science* 199:1342-1345, 1978.

– ABSTRACT –

EFFECT OF ORTHODONTIC FORCE ON THE ENZYME ACTIVITIES IN ALVEOLAR BONE

Hyung-Soo Kim, Dong-Seok Nahm

Department of Orthodontics, College of Dentistry, Seoul National University

The effect of orthodontic force on the collagenase and phosphatase activities of the adjacent alveolar bone was evaluated. Maxillary canines of male cats were treated orthodontically with closed coil spring so as to exert about 80g force.

Sixteen cats were equally divided into one control group and seven experimental groups (12 hrs, 24 hrs, 36 hrs, 2 days, 3 days, 5 days and 7 days after orthodontic treatment). After sacrificing all animals on experimental intervals, collagenase, acid phosphatase (ACP) and alkaline phosphatase (ALP) activities were determined in the pressure and tension sides of alveolar bones.

ACP activities increased in both the pressure and tension sides, but significantly increased in the pressure side continuously.

ALP activities increased in the tension side at early stage (1-2 days after treatment), but changed small amount in the pressure side.

Collagenase activities increased in the pressure side, especially at late stage (5-7 days after treatment).

These results suggest that (1) orthodontic force increases the ACP, ALP and collagenase activities generally and (2) activities of ACP and collagenase increase in the pressure side, but that of ALP in the tension side and (3) activities of ACP and ALP increase at early stage, but that of collagenase at late stage after orthodontic treatment.

Therefore it is shown that there are time differences in the formation and destruction of organic and inorganic components in the bone metabolism of alveolus with application of the orthodontic forces.

Key words: Orthodontic force, Collagenase, Acid phosphatase, Alkaline phosphatase