

방사선조사에 따른 구개점막상피의 형태학적 변화에 관한 실험적 연구

경북대학교 치과대학 치과방사선학 교실

안상희 · 이강숙 · 손정익 · 최갑식

목 차

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

I. 서 론

종양조직에 대한 방사선치료는 인접 정상조직도 방사선 조사야에 포함시키게 되므로, 형태적, 기능적 변화를 야기하여 조직 및 장기의 손상을 초래한다. 이러한 조직의 손상정도는 총조사량, 조사방법, 그리고 개체의 방사선에 대한 생물학적 반응정도 등에 따라 다양하게 나타나지만, 조직내 세포의 분열이 활발할수록, 세포의 분열과정이 길수록, 그리고 형태적, 기능적 분화가 낮을수록 높다¹⁻³⁾. 또한 일반적으로 방사선조사가 성장조직의 세포에 작용하여 야기하는 현상들은 비정상적인 세포분열과 세포분화의 중지, 염색체의 파괴, 거대세포의 생성 등이며, 특히 점막조직은 상피의 기저세포층에서 세포분열이 활발하여 방사선상해가 심하므로 방사선감수성이 비교적 큰 조직으로 분류된다¹⁻³⁾.

한편 구강영역에서의 방사선조사로 인한 영향은 구강점막염, 구강건조증, 미각장애, 다발성 치아우식증, 치아발육 장애, 방사선골괴사, 골치유 지연 등이 흔히 보고되어 왔으며, 구강점막의 조직학적 변화에 대해서는 Chase등⁴⁾이 비각화상피의 각화상피화, Goepf과 Fitch⁵⁾가 상피의 위축, Liu등^{6,7)}이 기저세포의 퇴행성 변화, Sandstrom과 Goepf⁸⁾이 결합조직의 부종으로 인한 상피와 점막하조직의 분리, 그리고 김과 민⁹⁾이 수포성, 괴사성 각질상피화 등을 보고하여, 방사선조사후의 구강점막에서는 상피의 박리, 상피내 수포나 종창, 궤양이 형성되며, 출혈 및 점막괴사가 나타나는 구강점막염이 야기되는 것으로 알려져 있다.

그러나 선학들의 연구는 비교적 높은 선량의 방사선조사후의 변화를 관찰하였으며, 부위에 있어서도 협점막이나 설점막에 관한 보고는 많으나, 저작기능에 보다 기여하는 구개점막부위에 대한 연구는 드물다. 이에 본 연구에서는 저작점막과 이장점막이 이어져 있는 구개점막의 상피를 대상으로 방사선조사량과 시일경과에 따른 변화를 검토하여 보고한다.

II. 실험재료 및 방법

1. 실험재료

실험동물은 200mg내외의 Sprague-Dawley계

백서였으며, 실험군은 5Gy 및 10Gy 단일조사한 후 1시간, 3시간, 6시간, 12시간, 1일, 3일, 7일, 14일, 그리고 28일에 각각 희생시키고 대조군과 비교하였다.

2. 실험동물에 대한 방사선조사

실험동물을 pentobarbital sodium으로 마취시킨 후, 고정장치 내에 양와위로 고정하고 선형가속기에서 6MV의 X선 조사를 실시하였다. 이때 방사선이 실험동물의 두경부에만 조사되도록 하였고, 관구와 피조사체간의 거리는 100cm, 조사심도는 1.5cm, 평균 선량률은 2Gy/min로 하여 흡수선량이 각각 5Gy 및 10Gy가 되게 하였다.

3. 조직학적 검색

실험동물을 희생시킨 즉시 채취한 구개부위의 경구개점막과 연구개점막을 10% 중성 포르말린 용액에 24시간 고정하고, 계열 알콜로 탈수, 수세, 파라핀 포매하여 4 μ m의 조직절편을 제작한 후, Hematoxylin-Eosin 중염색을 시행하여 400배에서 관찰하였다.

III. 실험성적

1. 경구개점막

1) 대조군

구개융기부위의 경구개점막은 일정한 두께로 각화가 잘 발달된 중층편평상피와 굵고 치밀한 교원섬유 다발로 구성된 고유층이 관찰되었다.

상피부위는 기저막에 인접하면서 입방 혹은 원주상피로 구성된 기저층과 타원형 또는 구형의 세포로 구성된 유극세포층, 크기가 크고 편평하며 각질성 초자양과립을 함유한 과립층, 그리고 편평한 호산성 무핵세포로 구성된 각질층으로 구성되었고, 상피융기의 발달은 비교적 미약하였다.

2) 실험군

방사선조사후 3시간군에서는 기저세포의 수포

성 변화가 관찰되었으며, 10Gy조사후 6시간군에서 상피층의 두께가 다소 감소되었고, 12시간군에서는 5Gy조사군에서도 상피층 두께의 감소가 분명하였으며, 상피세포의 크기가 증가되었다.

그러나 방사선조사후 1일군에서는 상피층의 두께가 다시 증가되었고, 3일군에서는 상피층의 두께증가와 상피융기의 신장이 관찰되었으며, 10Gy조사군에서 그 양상이 현저하였고 기저세포의 배열이 다소 불규칙하였다. 5Gy조사군의 7일군에서는 전반적으로 회복되었으나 세포크기는 여전히 증가되었고, 10Gy조사군에서는 그후 14일군에서 회복되었다.

2. 연구개점막

1) 대조군

연구개점막은 비교적 각화가 덜 발달된 중층편평상피와 교원섬유의 양이 적고 배열이 불규칙한 고유층으로 관찰되었으며, 점막은 탄력섬유층에 의해 점액성 소타액선으로 이루어진 점막하층과 분리되었다. 또한 상피층에서 미뢰가 관찰되었으며, 경구개점막에 비해 상피층은 얇으나 고유층은 두꺼우며, 상피융기의 발달은 미약하였다.

2) 실험군

방사선조사후 6시간군에서는 10Gy조사군의 상피세포 크기가 약간 증가되었고 상피층의 두께가 다소 감소되었다. 5Gy조사후 12시간군에서도 상피층의 두께가 감소되었고 상피세포의 크기가 증가되었으며, 10Gy조사군에서는 그 양상이 더욱 현저하였다. 방사선조사후 1일군에서는 상피층의 두께가 약간 증가되었고, 3일군에서는 기저세포의 증식으로 인해 상피층의 두께가 많이 증가되었으며, 상피융기가 신장되었다. 방사선조사후 7일군에서는 3일군과 유사한 소견이 관찰되었으며, 14일군에서 5Gy조사군에서는 어느정도 회복되었으나 세포크기는 여전히 증가되었고, 10Gy조사군에서는 7일군과 유사하였다. 그리고 방사선조사후 28일군에서는 10Gy조사군에서도 회복되었다.

IV. 총괄 및 고안

구강점막은 해부학적으로 피부와 장점막의 중간에 위치하면서 건조한 피부와 습윤한 장점막의 성질을 공유하며, 조직학적으로 상피층과 이를 지지해 주는 고유층으로 구성되며, 장점막보다는 느리지만 피부보다는 빠른 세포교체율을 가지는 방사선감수성이 비교적 높은 조직이다. 또한 구강점막은 하부조직을 보호하는 기능 뿐만 아니라 감각, 체온조절, 분비기능 등을 담당하고, 이러한 기능에 따라 조직학적 구조가 달라서 저작점막, 이장점막, 특수점막으로 구분된다.

그리고 부위에 따라 상피의 종류, 고유층과 점막하층의 구조, 그리고 점막하층이 하부결합조직에 부착하는 방식이 다르므로 방사선조사에 대한 반응양상도 일정하지 않다^{10,11}. 두경부의 방사선치료시 야기되는 구강점막염은 점막상피층의 기저세포에 대한 방사선상해로 인해 상피세포의 생성과 분화과정의 장애가 야기되고, 저작 등의 기계적 자극에 의해 상피 외층이 탈락되기 때문에 상피층의 비박과 궤양이 발생되어, 환자는 불편감을 호소하게 되고 음식물 섭취가 곤란하게 되는 중요한 후유증이다¹⁰⁻¹⁴.

방사선조사로 인한 구강점막의 변화에 대해서는 Chase등⁴이 방사선조사로 인해 세포분열이 억제되어 상피세포수는 감소되고, 상피는 하방결체조직을 피개하기 위해 오랫동안 잔존됨으로서 세포질내의 산화작용에 의해 비각화상피가 각화상피로 전환되며, 세포의 크기는 증대된다고 보고하였고, Goepf과 Fitch⁵는 방사선조사가 DNA 합성을 감소시키며 세포분열도 저하시켜 상피가 위축됨을 보고하였다. 본 연구에서도 방사선조사후 12시간군에서 상피세포층의 감소가 관찰되었으며, 기저세포층과 하부 유극세포층에서의 세포분열이 저하되어 조직의 지속적인 분화 및 생성이 억제되었음을 유추할 수 있었다. 그러나 세포분열의 장애는 세포분열지수를 구하거나, H³-thymidine을 이용한 자가방사선법, 또는 상피세포가 분열한 후 전체 상피층을 거처나가는 교체시간을 측정함으로써 정확히 알 수 있는 바, 부위에 따라 세포교체속도가 다른 구강점막에 대해 방사선조사로 인한 변화는 이러한 세

포동력학적인 연구를 통하여 비교 검토하는 것이 필요하다고 생각된다.

상피를 구성하는 여러 층의 세포들 중 기저세포에서 세포분열이 활발하여 방사선에 대해 가장 민감하다고 알려져 있다¹⁴⁻¹⁶. Liu등^{6,7}은 백서 순점막에서 50Gy조사후 2시간군부터 기저세포의 퇴행성 변화가 관찰됨을 보고하면서, 세포질이 수축된 dark cell이 기저층에 국소적으로 분포되며, 초기형태학적으로는 핵막의 팽창, 핵 및 세포질의 종창, 사립체의 종창, 염색질의 농축, 세포막의 손상, 용해소체와 골지체의 확대 등이 관찰되며, 이러한 퇴행성 변화는 방사선조사후 1일군에서 회복되기 시작하여 12일군에서는 완전 회복된다고 보고하였다. 본 연구에서도 방사선조사후 3시간군에서 기저세포의 수포성 변화가 나타나는 퇴행성 변화가 관찰되었으나, 변화의 정도는 미약하게 나타났다. 이는 방사선조사선량이 본 연구에서는 5Gy와 10Gy로 비교적 소량이었기 때문으로 생각되지만, 기저세포의 변성으로 인해 세포분열에 장애가 초래되어 지속적인 세포증식이 되지 못하였고, 이로 인해 그후 관찰된 상피층의 감소가 나타났다고 생각된다.

한편 Sandstrom과 Goepf⁸은 20Gy 방사선조사후의 실험에서 결합조직내의 부종이 기저막을 통과하여 상피세포 간격까지 이어지며, 이로 인해 상피세포의 교소체와 반교소체의 증식, 상피융기의 신장 및 기저세포돌기의 비대가 나타나지만 이러한 양상이 결합조직에서는 일어나지 않으므로 상피와 점막하조직이 쉽게 분리됨을 보고하였다. 또한 Morris등¹¹은 백서 순점막에 18Gy의 방사선조사후 H³-thymidine을 이용한 세포동력학적 연구를 통하여 조사후 2일군에서 세포분열이 지연되고 그후 보상적으로 세포가 증식됨을 보고하였고, Emery등¹⁷은 방사선조사후 점막상피에 비해 세포교체가 느린 표피에서도 7일군에서 세포가 증식됨을 보고하였다. 본 연구에서도 방사선조사후 초기에서는 세포층의 감소가 관찰되었으나, 3일군에서 구개점막 상피층의 현저한 증가와 기저세포의 하방증식으로 인한 상피융기의 신장이 관찰되어 선행들의 보고와 유사하였다. 또한 김과 민⁹은 백서 구강점막에서 방사선조사후 각 부위의 변화는 세포교

체기간이 짧은 협점막부위에서 가장 크게 나타났고, 구개점막에 30Gy와 40Gy조사후 2일군에서 기저세포의 배열이 불규칙해지고 기저막이 파괴되었다가 시일이 경과함에 따라 회복됨을 보고하였으며, 최와 이¹⁸⁾는 협점막에서 방사선조사후 상피와 결체조직의 경계가 불분명해짐을 보고하였다. 본 연구에서도 기저세포의 배열이 불규칙해졌을 때 부분적으로 기저막이 소실된 소견을 보였으나, 기저막의 관찰이 용이한 PAS 염색법, 면역형광염색법 등을 시행하지 못하여 관찰에 한계가 있었을 것으로 생각된다. 또한 핵만 분열되고 세포질이 분열되지 못하였거나 주위세포들과 융합되어 형성되는 다핵거대세포가 관찰되었다는 보고⁹⁾와는 달리, 본 연구에서는 이러한 소견이 관찰되지 않았다. 이는 이와 이¹⁹⁾가 백서 설점막에 8Gy 및 13Gy조사후에도 다핵거대세포가 관찰되지 않았다는 보고와 유사하며, 본 연구에서도 조사선량이 5Gy 및 10Gy로서 비교적 적은 선량이므로 조직의 손상정도가 미약했을 것으로 생각된다.

방사선조사후 만성적인 조직손상은 혈관내피세포의 손상으로 혈류장애가 초래되어 점막조직과 근육이 위축되고 섬유화되는 만성적인 손상이 야기되어 위장관의 협착, 폐색이 초래되고 구강영역에서는 궤양이 쉽게 야기되어 무치악환자에서 의치의 장착이 어렵게 되고, 개구장애 등이 나타난다고 알려져 있다²⁰⁾. 본 연구에서는 조직학적으로는 대조군과 유사하게 회복되는 소견을 보였으나, 연구방법의 한계로 인해 관찰되지 못한 잔존 손상이 있으리라 생각되므로, 구개점막의 만성적인 손상은 저작이나 상악의치의 유지와 안정에 밀접한 관련이 있어 환자에게 상당한 불편감을 줄 것으로 생각된다.

방사선조사로 인한 구강점막의 변화에 대한 선학들의 연구들은 비교적 많은 선량에서 시행되었으나, Lurie¹⁵⁾와 White²¹⁾는 5Gy이하의 방사선조사후에서도 염색체의 이상이 관찰됨을 보고하였고, 최근 강과 유¹⁶⁾는 5460mR를 조사한 후 햄스터의 협낭기저세포 분열지수가 감소됨을 보고한 바 있어 본 연구에서도 비교적 적은 선량을 사용하여 실험을 시행하였다. 그러므로 많은 선량을 조사한 후의 조직학적 변화를 관찰한 선학

들의 보고에 비해 변화가 미미하였고, 또한 광학현미경적 소견만을 관찰하였기 때문에 한계가 있었을 것으로 생각되지만 점막상피의 기저세포층에서의 형태학적 변화는 방사선조사량과 시일 경과에 따라 그 변화가 분명하게 관찰되었다. 방사선조사후의 조직 및 장기의 구조와 기능변화 또는 세포소기관의 형태학적 변화가 주로 연구되어 왔고, 본 연구에서도 구강점막상피의 조직학적 변화를 관찰하였으므로, 추후 방사선조사에 따른 구강점막의 변화에 대해서는 방사선에 대해 민감한 DNA합성변화를 생화학적, 면역조직화학적 방법으로 관찰하거나, 세포동력학적 연구를 통한 추가적인 검토가 필요하다고 생각된다.

V. 결 론

구개점막상피에서 방사선조사량과 시일경과에 따른 변화를 알아보기 위하여, 백서 두경부에 6MV X선을 5Gy 및 10Gy조사하고 조직학적 변화를 관찰하여 다음의 결과를 얻었다.

방사선조사후 3시간군과 6시간군에서 수포성 변화와 상피층 두께의 감소가 관찰되었고, 3일군에서는 기저세포의 증식으로 인한 상피층의 두께 증가와 상피융기의 신장이 관찰되었다. 경구개부위의 점막상피에서는 5Gy조사후 7일군에서, 10Gy조사후 14일군에서 회복되는 소견을 보였고, 연구개부위의 점막상피에서는 5Gy조사후 14일군에서, 10Gy조사후 28일군에서 회복되는 소견을 보였다. 또한 경구개부위에 비해 연구개부위의 점막상피에서 방사선조사로 인한 조직반응이 보다 분명하였고, 회복도 지연되었다.

REFERENCES

1. Perez, C.A. and Brady, L.W. : Principles and practice of radiation oncology, J.B. Lippincott Co., Philadelphia, pp.56-98, 1987.
2. Bornford, C.K., Kunkler, I.H., and Sherriff, S.B.: Textbook of radiotherapy, 5th ed., Churchill Livingstone, New York, pp.253-274, 1993.
3. Cox, J.D. : Moss' radiation oncology, 7th ed., C.V. Mosby Co., St. Louis, pp.3-79, 169-213,

- 1994.
4. Chase, L.P., Toto, P.D., and Magalotti, M.F.: Radiation-induced changes in the epithelium of the buccal mucosa, *J. Dent. Res.*, 40:929-935, 1961.
 5. Goepp, R.A. and Fitch, F.W.: Radiation effects on oral epithelium in mice, *J. Dent. Res.*, 48: 641-664, 1969.
 6. Liu, H.M., Meyer, J., and Waterhouse, J.P.: Light microscopic distribution and electron microscopic identification of severely damaged cells in X-irradiated oral epithelium in rat, *Radiat. Res.*, 62:288-298, 1975.
 7. Liu, H.M., Meyer, J., and Waterhouse, J.P.: An ultrastructural study of the effects of X-irradiation on the oral epithelium of the rat ; qualitative aspects, *J. Oral Pathol.*, 5:194-208, 1976.
 8. Sandstrom, N.F. and Goepp, R.A.: Radiation-induced epithelial-submucosal separation ; an electron and light microscopical investigation, *J. Dent. Res.*, 56: 1383-1390, 1977.
 9. 김은주, 민병순: 방사선조사가 구강점막상피에 미치는 영향에 관한 실험적 연구, *경희치대는문집*, 7:265-272, 1985.
 10. Xu, F.X., Emmanuel van der Schueren, and Ang, K.K.: Acute reactions of the lip mucosa of mice to fractionated irradiations, *Radiotherapy and Oncology*, 2:369-374, 1984.
 11. Morris, G.M., Landuyt, W., Whitehouse, E., Vanuytsel, L., and Hopewell, J.W.: Radiation response of mouse lip mucosal epithelium ; a cell kinetic study, *Int. J. Radiat. Biol.*, 63: 509-517, 1993.
 12. Bernier, J.L.: The effects of atomic radiation on the oral and pharyngeal mucosa, *J. Am. Dent. Assoc.*, 39:647-657, 1949.
 13. Parkins, C.S., Fowler, J.F., and Yu, S. : A murine model of lip epidermal/mucosal reactions to X-irradiation, *Radiotherapy and Oncology*, 1:159-165, 1983.
 14. Dörr, W. and Kummermehr, J.: Accelerated repopulation of mouse tongue epithelium during fractionated irradiations or following single doses, *Radiotherapy and Oncology*, 17:249-257, 1989.
 15. Lurie, A.: Effects of low level X-radiation on the mitotic index of hamster basal epithelial cells in vivo, *J. Dent. Res.*, 48:1049-1053, 1969.
 16. 강병철, 유동수: 저선량방사선이 햄스터의 혀낭 기저세포 분열지수에 미치는 영향에 관한 연구, *대한구강악안면방사선학회지*, 23:215-228, 1993.
 17. Emery, E.W., Denekamp, J., and Ball, M.M.: Survival of mouse skin epithelial cells following single and double doses of X-rays, *Radiat. Res.*, 41:450-466, 1970.
 18. 최승규, 이상래: 방사선조사가 백서 혀점막에 미치는 영향에 관한 전자현미경적 연구, *대한구강악안면방사선학회지*, 17:7-26, 1987.
 19. 이선기, 이상래: 방사선조사가 백서 설조직에 미치는 영향에 관한 실험적 연구, *대한구강악안면방사선학회지*, 20:125-134, 1990.
 20. Engelmeier, R.L. and King, G.E.: Complications of head and neck radiation therapy and their management, *J. Prosthet. Dent.*, 49:514-522, 1983.
 21. White, S.C.: Effects of low-level X-radiation on chromosome, *J. Dent. Res.*, 46:1177-1181, 1967.

-ABSTRACT-

AN EXPERIMENTAL STUDY OF THE RADIATION-INDUCED CHANGES IN THE EPITHELIUM OF THE RAT PALATAL MUCOSAE

Sang-Hee Ahn, Kang-Sook Lee, Jeong-Ick Sohn, Karp-Shik Choi

Department of Dental radiology, College of Dentistry, Kyungpook National University

The purpose of this study was to investigate the irradiation effects on the palatal mucosa. For this study, Sprague-Dawley strain rats were irradiated to their head and neck region with the dose of 5Gy and 10Gy by 6MV X-radiation and sacrificed on the experimental periods after irradiation. The authors observed the histological changes of the hard and soft palatal mucosae.

The results were as follows:

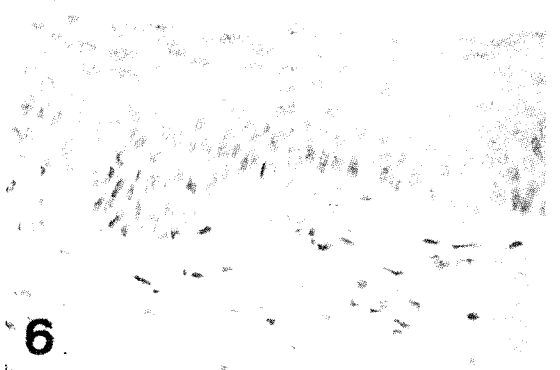
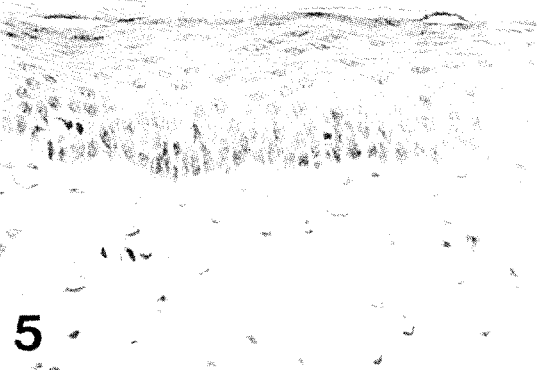
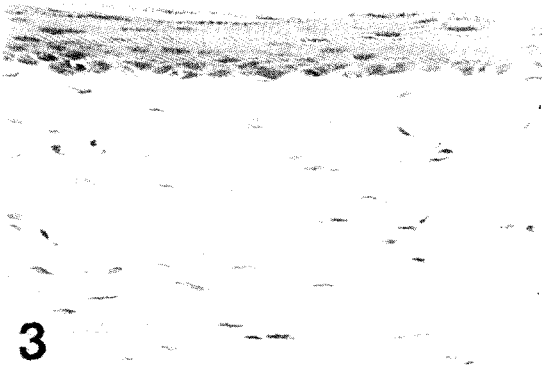
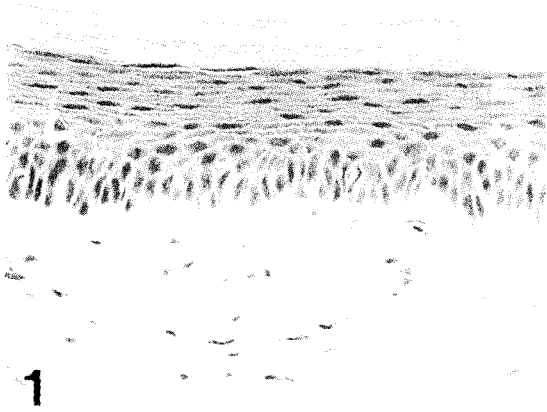
In the light microscopic examination, hydropic change on the basal cells, increased cell size of the epithelium, and decreased epithelial cell layers were observed on the 3hours, 6hours, and 12hours groups after irradiation. But, basal cell hyperplasia, increased epithelial cell layers, and elongated rete pegs were observed on the 3days group after irradiation. After then, these changes were recovered in the mucosa of the hard palate on the 7days and 14days groups, and in the mucosa of the soft palate on the 14days and 28days groups after irradiation. And such changes were greater in the mucosa of the soft palate than in that of the hard palate, and more prominent in 10Gy irradiated groups than in 5Gy irradiated groups.

사진 부도

(These figures have 400 magnification with Hematoxylin and Eosin staining.)

- Fig. 1.** There show well-keratinized stratified squamous epithelium and dense collagenous connective tissue on the rugae area.
- Fig. 2.** Noted hydropic changes on the basal cell layer on the 3hours group after 10Gy irradiation.
- Fig. 3.** Noted severely decreased epithelial layers on the 12hours group after 10Gy irradiation.
- Fig. 4.** Basal cell hyperplasia is evident on the 3days group after 5Gy irradiation.
- Fig. 5.** Recovered mucosa on the rugae area is noted on the 7days group after 5Gy irradiation.
- Fig. 6.** Basal cell hyperplasia is evident on the 7days group after 10Gy irradiation.
- Fig. 7.** There show stratified squamous epithelium and loose connective tissue on soft palate area.
- Fig. 8.** Noted severely decreased epithelial layers on the 1day group after 10Gy irradiation.
- Fig. 9.** Noted severely increased size and epithelial layers on the 3days group after 5Gy irradiation.
- Fig.10.** Noted basal cell hyperplasia & elongated rete pegs on the 3days group after 5Gy irradiation.
- Fig.11.** Similar findings with Fig. 10. on the 7days group after 10Gy irradiation.
- Fig.12.** Recovered mucosa on the soft palate area is noted on the 28days group after 10Gy irradiation.

논문사진부도 ①



논문사진부도 ②

