

방사선조사와 저칼슘식이 치아형성시 Interleukin-1의 분포에 미치는 영향에 관한 연구

경희대학교 치과대학 구강악안면방사선학교실
김일중 · 황의환 · 이상래

The Effects of Irradiation and Calcium-deficient Diet on the Expression of Interleukin-1 during Tooth Formation of Rat Molar

Il-Joong Kim, Eui-Hwan Hwang, Sang-Rae Lee

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

ABSTRACT

Purpose : To elucidate the effects of the irradiation and calcium-deficient diet on expression of interleukin (IL)-1 during tooth formation of rat molar

Materials and Methods : The pregnant three-week-old Spague-Dawley rats were used for the study. The control group was non-irradiation/normal diet group, and the experimental groups were irradiation/normal diet group and irradiation/calcium-deficient diet group. The abdomen of the rats on the 9th day of pregnancy were irradiated with single dose of 350 cGy. The rat pups were sacrificed on the 14th day after delivery and the maxillae tooth germs were taken. The specimen were prepared to make sections for light microscopy, and some of tissue sections were stained immunohistochemically with anti-IL-1 antibody.

Results : In the irradiation/normal diet group, dental follicle showed fewer blood vessels, mononuclear cells, and fusions of mononuclear cells than in non-irradiation/normal diet group. Alveolar bone showed a few osteoblasts and osteoclasts. Periodontal ligament showed collagen fibers and fibroblasts with irregularity. Weak immunoreactivity for IL-1 was shown in dental follicle, alveolar bone, and periodontal ligament. In the irradiation/calcium-deficient diet group, dental follicle showed sparse cellularity. Alveolar bone showed diminished number of osteoblasts. Periodontal ligament showed irregular collagen fibers and atrophy of cementoblasts and fibroblasts. No immunoreactivity for IL-1 was shown in dental follicle, alveolar bone, and periodontal ligament.

Conclusion : Irradiation and calcium-deficient diet seems to cause disturbance of the expression of interleukin-1 during tooth formation of rat molar. (*Korean J Oral Maxillofac Radiol* 2000 ; 30 : 159-168)

KEY WORDS : irradiation, calcium-deficient diet, interleukin-1, tooth formation

서 론

치아의 형성과정은 치아의 발생에서 맹출로 이어지는 일련의 과정으로서, 치아의 발생과 발육 및 맹출시에는 특정한 조직과 세포, 그리고 특정한 cytokine을 필요로 한다.^{1,2} 특히, cytokine은 치아의 맹출과정에서 치낭, 치낭내 단핵세포, 파골세포, 치주인대 섬유모세포 등과 함께 이리

한 세포들의 활동성에 영향을 미치는 등 주요한 역할을 담당한다.^{3,4}

치아의 맹출에 관여하는 cytokine에는 colony-stimulating factor (CSF)-1, interleukin (IL)-1, monocyte chemotactic protein (MCP)-1, nuclear factor- κ B, epidermal growth factor (EGF), transforming growth factor (TGF)- β 등이 있다.⁵ 이 중 IL-1은 대식세포에 의해 분비되는 cytokine의 하나로서, 이는 간에서 단백질의 합성을 유도하고, 발열에 관여하며, 혈장 금속 이온농도를 변화시킬 뿐만 아니라 혈관 내피세포를 활성화시키고, 섬유모세포의 증식 및 교원질의 생성, 골의 흡수 등을 유도하는 것으로 알려져 있다.⁶ IL-1에 대하여, Lorenzo 등⁷은 국소적인 골 흡수의 조절인자라고 하

접수일: 2000년 6월 3일 채택일: 2000년 7월 7일
Correspondence to: Prof. Eui-Hwan Hwang
Department of Oral and Maxillofacial Radiology, College of Dentistry, Kyung Hee University, #1 Hoeki-dong, Dongdaemun-ku, Seoul 130-701, Korea
Tel) 02-958-9406, Fax) 02-965-1256
E-mail) hehan@khu.ac.kr

였고, Sato 등⁸은 골 흡수의 촉진인자라고 한 바 있다.

이와 같이 치아의 형성시에는 다양한 조직과 세포 및 cytokine이 관여하며, 발육 중이거나, 혹은 맹출 중인 치아는 국소적 또는 전신적 요인의 영향을 쉽게 받아 이의 구조나 구성성분에 변화가 야기되거나, 맹출장애가 유발될 수 있는데, 국소적 요인의 하나인 방사선조사시에는 치아의 발육장애나 맹출장애 및 지연 등이 나타나며,^{9,10} 전신적 요인의 하나인 골다공증시에는 치아 경조직의 석회화와 치조골의 형성 등에 장애가 유발된다.^{11,12}

골다공증은 골의 화학적 성분에는 변화가 없으나, 단위용적당 골량이 감소되는 대사성 골질환의 하나로서,^{13,14} 이의 발생원인으로는 에스트로겐의 분비 저하, 신장에서의 1,25(OH)₂D₃의 합성 감소, 장관에서의 칼슘흡수 저하나 칼슘의 섭취 부족, 근위축 및 운동부족 등이 보고되고 있으며, 이들 원인들이 독립적으로, 혹은 복합적으로 작용하여 골다공증을 초래시키는 것으로 알려져 있다.^{11,15} 골다공증시에는 골량의 감소로 인하여 피질골의 비박, 골소주의 감소 및 연결성 결여 등이 야기되어 사소한 외력이나 신체의 하중에 의하여서도 골절이 쉽게 발생할 뿐만 아니라, 치아의 형성에도 영향을 미쳐 상아질의 형성장애, 법랑질과 상아질의 석회화 감소 등이 유발되고, 치조백선의 소실 및 치조골과 백악질의 흡수가 발생된다.¹⁶⁻¹⁹ 칼슘결핍에 의한 골다공증이 치아 형성에 미치는 영향에 관한 연구로는, Shoshan과 Pisanti²⁰가 백서의 치아 교원질 합성에 미치는 영향에 관하여, Lozupone과 Favia²¹가 성장기 백서의 법랑질과 상아질의 두께 및 미세경도에 미치는 영향에 관하여, Bonucci 등²²이 성장기 백서의 법랑질 형태에 미치는 영향에 관하여 각각 연구보고한 바 있다.

한편 두경부 악성 종양의 방사선치료시 방사선은 종양 세포에만 영향을 미치는 것이 아니라 인접 정상조직의 세포에도 영향을 미쳐 점막염, 점막의 궤양, 구강건조증, 방사선 치아우식증, 방사선골괴사 등을 유발시키며,²³ 특히 치아의 경우 석회화 완성 이전에 방사선조사를 받으면 치배의 파괴가, 치아의 형성과정 중에 방사선조사를 받으면 발육이 정지되고, 법랑질과 상아질의 형성장애 및 백악질의 침착장애가 야기되며, 심한 경우에는 치은과 치주인대의 괴사가 유발된다.²⁴⁻²⁶ 따라서 방사선이 치아형성에 미치는 영향에 관하여서는 많은 보고가 이루어진 바 있는데, Leist,²⁷ Smith²⁸는 상아질의 형성장애, 치아의 맹출지연과 치근의 성장 감소를, Burstone²⁹은 법랑질과 상아질의 형성장애를, Medak 등³⁰은 치아의 맹출지연을, English와 Tullis,³¹ Dale³²은 치은의 종창과 출혈 및 법랑질형성부전을 각각 보고한 바 있다.

최근 두경부 악성 종양의 발생률이 증가되고, 종양의 발생연령이 낮아짐에 따라 심미성의 보존을 위해 방사선치료가 빈번히 1차 치료법, 또는 보조 치료법으로 이용되고 있으며,³³⁻³⁵ 이에 따라 방사선에 의하여 발현되는 다양한

구강조직의 병변과 합병증을 숙지하는 것은 치료 임상에서 매우 중요하다. 또한 최근까지 식이 요인, 특히 칼슘결핍이 치아 형성에 미치는 영향에 관하여서는 많은 연구가 이루어진 바 있으나, 방사선조사와 칼슘결핍이 치아 형성에 미치는 영향에 관한 연구, 특히 IL-1의 분포에 미치는 영향에 관한 연구는 매우 드물다. 따라서 방사선과 칼슘결핍이 치아 형성에 미치는 영향을 구명하기 위한 세포 및 cytokine의 변화에 관한 연구는 방사선 생물학적으로 상당히 의의가 있다고 생각된다.

이에 저자들은 태내 백서의 치배 형성시기에 방사선을 조사하고, 이후 저칼슘식을 투여한 모백서로부터 수유된 자백서의 치배와 이의 주위 조직을 관찰하여 방사선과 저칼슘식이 치아형성시 IL-1 분포에 미치는 영향을 광학현미경을 이용한 병리조직학적 방법 및 IL-1 항체를 이용한 면역조직화학적 방법으로 관찰하였다.

재료 및 방법

1. 실험재료

체중 150 gm 내외의 생후 3주된 Sprague-Dawley계 백서 15두를 임신시킨 후, 이들을 실험목적에 따라 방사선비조사-정상식이군을 대조군으로, 방사선조사-정상식이군과 방사선조사-저칼슘식이군을 실험군으로 정하여 각 군에 이들 임신 백서 5두씩을 각각 배정하였으며, 이들 3개 군의 임신 백서로부터 각각 출생되어 제 1대구치의 치관이 형성되고, 치근의 발육과 치아의 맹출이 시작되는 생후 14일된 자백서 5두씩을 각 군의 실험동물로 선정하였다.

2. 실험방법

1) 방사선조사

실험군인 방사선조사-정상식이군과 방사선조사-저칼슘식이군 백서의 임신 9일에 방사선조사를 시행하였다. 방사선조사시에는 실험동물용 마취제인 Zoletil (Vibrac Laboratories, France)을 체중 100 gm당 0.02 ml 근육내 주사하여 전신마취시켜 방사선조사대에 고정시킨 다음, Co-60 심부치료기 (Theratron 780, Atomic Energy of Canada Ltd, Canada)를 이용하여 선량률 63.2 cGy/min으로 350 cGy의 흡수 선량이 되도록 임신 백서의 복부에 일회 조사하였다.

2) 식이 투여

정상식을 투여한 방사선비조사-정상식이군과 방사선조사-정상식이군에는 칼슘 0.6%, 인 0.2%가 함유된 백서용 고휘사료 (Samyang Oil & Feed Co, Ltd, Korea)와 상수도 물을, 저칼슘식을 투여한 방사선조사-저칼슘식이군에는 방사선조사 후 칼슘 0.01%, 인 0.95%가 함유된 백서용 고휘사료 (Oriental Yeast Co, Ltd, Japan)와 멸균 증류수를 각각 자유섭취시켰다.

3) 실험동물의 희생

대조군과 실험군에서 생후 14일된 자백서를 각각 희생시킨 다음, 제1대구치 치배가 포함되도록 상악골을 절취하였다.

4) 관찰방법

(1) 광학현미경 관찰

각 군의 실험동물을 ethyl ether로 흡입마취시킨 후, 10% 중성 완충 formalin (pH 7.0)으로 심장을 통하여 전신 관류고정한 다음, 제1대구치 치배를 포함하여 상악골을 절취하여 동일 용액에 4시간 더 고정하였다. 그 후 구강점막 이외의 불필요한 연조직을 제거하고, 0.01 M 인산 완충용액 (pH 7.4)으로 30분간 수세하여 0.01 M 인산 완충용액에 희석시킨 10% ethylene diaminetetraacetic acid (EDTA, pH 7.4)로 4°C에서 7일간 탈회하였다. 일련의 ethanol로 탈수시킨 후 propylene oxide를 거쳐 epon으로 포매하여 박절기 (2050 Supercut, Reichert-Jung, West Germany)로 1 µm의 준박절편을 제작하였다. 조직절편을 건조시킨 후, 1% alkaline toluidine blue 용액을 절편에 떨어뜨려 염색하였다. 따뜻한 물로 남은 염색액을 세척해 낸 후 봉입하여 광학현미경으로 관찰하였다.

(2) 면역조직화학적 관찰

면역조직화학적 관찰을 위해서 Avidin-Biotin Conjugate (ABC)법을 사용하여 면역염색을 시행하였는데, 일차 항체는 IL-1에 대한 항체 (Santa Cruz Biotechnology, USA)를 사용하였고, 이차 항체 및 ABC reagent는 Vectastain Elite ABC kit (Vector laboratories, USA)를 사용하였다. 각 군의 실험동물을 동일한 요령으로 10% 중성 완충 formalin (pH 7.0)으로 심장을 통하여 전신 관류고정한 후, 제1대구치 치배가 포함되도록 상악골을 절취하여 동일 용액에 4시간 더 고정된 후, 0.01 M 인산 완충용액 (pH 7.4)으로 30분간 수세하여 0.01 M 인산 완충용액에 희석시킨 10% EDTA (pH 7.4)로 4°C에서 7일간 탈회하였다. 일련의 ethanol로 탈수시킨 후, xylene을 거쳐 파라핀으로 포매하여 박절기 (2050 Supercut, Reichert-Jung, West Germany)로 5 µm의 절편을 제작하였다. 조직절편의 파라핀을 xylene으로 제거하고, 일련의 ethanol과 증류수로 각각 5분씩 재함수시켰다. 본 실험방법에서는 과산화 효소가 발색을 일으키는 효소로 사용되므로, 내재성과 산화효소를 불활성화시키기 위해 methanol에 희석시킨 0.3% H₂O₂로 실온에서 30분간 처리한 후, 0.01 M phosphate buffered saline (PBS, pH 7.2)으로 10분씩 2회 수세하였다. 비특이적 반응을 방지하기 위해 goat 정상혈청으로 20분간 반응시켰다. 여분의 혈청을 제거해 내고, 절편에 일차 항체로서 백서의 IL-1에 대한 토끼의 항체를 PBS로 각각 1:10의 농도로 희석하여 적용시킨 후, 조직절편이 건조되지 않도록 습도를 유지한 상태로 실온에서 2시간 반응시켰다. 이 때 음성 대조군에는 일차 항

체 대신 0.01 M PBS를 반응시켰다. 조직 절편을 0.01 M PBS로 5분씩 2회 수세한 후, ABC reagent로 실온에서 30분간 적용시켰다. 절편을 0.01 M PBS로 5분간 수세하고, 마지막으로 0.01 M PBS로 5분간 수세하고, 마지막으로 0.1 M Tris buffer (pH 7.2)에 녹인 0.1% diaminobenzidine tetrahydrochloride (DAB) 용액과 0.02% H₂O₂를 동량으로 섞은 용액을 적용하여 빛을 차단한 조건에서 5분간 반응시켰다. 이 후 조직 slide를 흐르는 증류수로 10분간 수세하고, 필요한 경우 Mayer's hematoxylin으로 3분간 대조염색하여 N₃H₂O로 처리한 후, 수용성 봉입제인 glycerol gelatin (Sigma Diagnostics, USA)으로 봉입하여 광학현미경으로 관찰하였다.

결 과

1. 방사선비조사-정상식이군

1) 광학현미경 소견

교두 주변의 치낭에서는 많은 혈관과 혈관에서 이동된 많은 단핵세포, 그리고 단핵세포가 융합된 양상이 관찰되었다 (Fig. 1). 치낭 주변의 성장 중인 치조골에서는 골모세포가 골편을 둘러싸고 있었으며, 모세혈관이 풍부하게 분포되어 있었고, 골기질에는 많은 골세포들이 관찰되었으며, 크기가 크고 다핵성인 파골세포가 골면에 근접하여 침식 공간을 형성하고 있었다 (Fig. 2). 발육 중인 치근 상아질 표면에서는 키가 작고 통통한 주사위 모양의 많은 백악모세포가 관찰되었고, 이 부위의 섬유모세포는 백악질 표면으로 세포돌기를 뻗고, 백악질에서 치조골 방향으로 교원 섬유의 방향대로 길쭉한 형태로 경사진 방향성을 보였다 (Fig. 3).

2) 면역조직화학적 소견

교두 부위의 법랑모세포의 바깥쪽 치낭내에서 강한 면역반응을 나타내었으나, 법랑질과 치관 상아질에서는 면역반응이 나타나지 않았다. 상방의 치조골은 광화된 골바탕질 이외의 세포 성분에서 강한 면역반응을 나타내었다 (Fig. 4). 또한 치근 상아모세포의 분화가 완성되어 치근 상아질을 분비하고 있는 활동성의 상아모세포층에서는 면역반응을 볼 수 있었으나, 상아기질 및 치수의 결합조직에서는 면역반응이 나타나지 않았다. 치근과 인접한 치주인대에서는 중등도의 면역반응을 보였다 (Fig. 5).

2. 방사선조사-정상식이군

1) 광학현미경 소견

교두 상방에 위치한 치낭에서는 혈관이 감소되었으며, 혈관에서 이동된 단핵세포의 수와 단핵세포가 융합되어 있는 양상도 감소되었다 (Fig. 6). 또한 치낭 주변의 치조골

을 둘러싸고 있는 골모세포의 숫자가 감소되었고, 다핵성의 파골세포도 관찰하기 어려웠다(Fig. 7). 발육 중인 치근 상아질 표면의 백악모세포는 표면에서 떨어져 주위의 섬유모세포와 혼재되어 있었고, 교원섬유의 방향과 섬유모세포의 방향이 다소 불규칙하게 관찰되었다(Fig. 8).

2) 면역조직화학적 소견

교두 부위의 법랑모세포층과 바깥쪽 치낭내에서는 미약한 면역반응이 관찰되었고, 교두 상방의 광화된 골바탕질 이외의 세포성분에서도 미약한 면역반응을 나타내었다(Fig. 9). 치근 상아모세포층에서는 미약한 면역반응을 볼 수 있었으나, 상아기질 및 치수의 결합조직에서는 면역반응이 거의 나타나지 않았다. 치근과 인접한 치주인대에서는 미약한 면역반응을 나타내었다(Fig. 10).

3. 방사선조사-저칼슘식이군

1) 광학현미경 소견

치낭부의 세포층에서는 세포의 밀도가 현저히 감소되었고, 동시에 섬유가 불규칙해졌다(Fig. 11). 치조골의 발생이 미약하였고, 주변 골세포의 밀도도 감소되었으며, 주변의 골모세포층은 덜 분화된 세포층으로 형성되어 있었다(Fig. 12). 치근 표면의 백악기질이 불규칙하게 형성되어 있었고, 백악모세포와 섬유모세포가 위축되었으며, 교원섬유가 가늘고 불규칙하게 관찰되었다(Fig. 13).

2) 면역조직화학적 소견

교두 상방의 치낭부의 세포층과 치조골에서는 골바탕질 이외의 세포성분에서 면역반응이 거의 나타나지 않았으며(Fig. 14), 치근과 인접한 치주인대에서도 면역반응을 거의 보이지 않았다(Fig. 15).

고 찰

치아의 발생과 발육 및 맹출시에는 여러 가지 체내, 외 조건에 의하여 이에 관여하는 조직과 세포 및 cytokine의 변화가 야기될 수 있으므로 치아의 형성장애 등을 구명하기 위해서는 치아의 발생과 발육 및 맹출과정에 영향을 미치는 다양한 국소적, 또는 전신적 요인에 대한 평가가 이루어져야 할 것이다.

따라서 본 실험에서는 치아의 발생과 발육 및 맹출과정에 장애를 유발시키는 국소적 요인의 하나인 방사선과 전신적 요인의 하나인 골다공증이 치아형성시 IL-1의 분포에 미치는 영향을 관찰하기 위해 태내 백서의 치배 형성 시기인 백서의 임신 9일에 임신 백서에는 영향이 없고, 태내 백서의 기형을 유발시키는 선량인 350 cGy의 흡수선량 36을 임신 백서의 복부에 일회 조사시킨 후, 계속 정상식을 투여한 모백서에게서 수유된 자백서군인 정상식이-방사선조사군과 방사선조사 후부터 저칼슘식이를 투여한

모백서에게서 수유된 자백서군인 방사선조사-저칼슘식이군의 치배를 대조군인 방사선비조사-정상식이군의 치배와 비교, 관찰하였다.

본 실험에서는 치관이 형성되고, 치근의 발육과 치아의 맹출이 시작되는 생후 14일된 자백서의 제1대구치 치배를 관찰하였는데, 백서의 제1대구치의 조직분화와 치아 구조의 양상은 인간과 매우 유사하다.³⁷ 또한 본 실험에서는 칼슘결핍으로 인한 골다공증을 유발시키기 위해 저칼슘식이를 투여하였는데, 이는 비교적 짧은 기간동안 지속적이고도 안정적인 골다공증의 유발이 가능하기 때문이었다.³⁸

한편 본 실험에서는 방사선과 저칼슘식이에 의한 칼슘결핍이 치아형성에 미치는 영향을 평가하는 지표로 IL-1을 사용하였다. interleukin은 cytokine 중에서 특히, 항원의 자극에 의해 대식세포, 혹은 T세포가 만들어내는 단백질 성분의 인자를 총칭하는데, 이 중 IL-1은 대식세포에 의해 생산되는 35-60 kda의 subunit로 구성된 interleukin의 일종으로서, 파골세포와 파치세포 및 백혈구의 활성화, B세포의 기능 항진, 섬유모세포의 증식과 교원질의 생성, 근육의 단백질 분해, prostaglandin-E의 생성 등의 기능이 있는 것으로 알려져 있다.^{6,39-41}

본 실험의 대조군인 방사선비조사-정상식이군의 광학현미경 소견에서 치낭에서는 풍부한 혈관과 다수의 단핵세포 및 단핵세포가 융합된 양상이, 치낭 주위 치조골에서는 침식 공간을 형성하는 다수의 파골세포가 관찰되었다. 또한 치근 부위에서는 다수의 백악모세포와 섬유모세포가 관찰되었고, 교원섬유는 방향성을 보이고 있었다. IL-1 항체에 대한 면역염색 결과, 치낭과 치낭 주위 치조골에서 강한 면역반응을, 치근과 인접한 치주인대 부위에서는 중등도의 면역반응을 나타내었으며, 활동성의 상아모세포층에서도 면역반응을 볼 수 있었다.

치아의 맹출은 악골에서 발생된 치아가 기능을 수행하기 위해 교합면까지 이동하는 과정으로서, 치아가 맹출하기 위해서는 치조골의 흡수와 치낭이 필요한데, Marks 등³은 치아 맹출시 혈관을 통해 단핵세포가 치낭내로 유입됨을 보고하였으며, Wise 등¹은 치아의 맹출로를 형성하는데 필요한 파골세포를 형성하기 위해서는 단핵세포가 치낭내로 유입되어야 하며, 이러한 단핵세포의 치낭내로의 유입과 파골세포의 형성은 IL-1과 같은 특정한 cytokine에 의한다고 하였다. 또한 Cotran⁴²과 Dunn⁴³은 IL-1이 혈관 내 피세포를 활성화시켜 단핵세포가 혈관에서 이동하는 것을 조절할 수 있을 뿐만 아니라 혈장의 이동에도 관여한다고 보고하였다. 본 실험에서는 치낭에서 풍부한 혈관과 다수의 단핵세포가, 치조골 주위에서는 파골세포가, 치근 부위에서는 백악모세포와 섬유모세포가 관찰되었고, IL-1 항체에 대한 면역염색에서는 치낭내와 치조골, 그리고 상아모세포층에서 강한 면역반응이 관찰되어 정상적인 치아의 형성 소견과 함께 IL-1이 치아의 맹출에 관여하는 세포들

의 활성화에 많은 영향을 미치는 것을 확인할 수 있었다. 또한 치근 부위에서는 다수의 섬유모세포가 관찰되었으며, IL-1 항체에 대한 면역염색에서도 치주인대 부위에서 중등도의 면역반응을 보였는데, Magnusson⁴⁴은 맹출 중인 치아의 치근단 부위 치주인대는 치수나 다른 치주인대 부위에 비해서 증식력이 높다고 하였고, Schmidt 등⁴⁵과 Postlethwaite 등⁴⁶은 IL-1이 섬유모세포의 증식과 교원질 합성을 조절한다고 하였는 바, 이는 치아 맹출시 치근단 부위 치주인대도 IL-1에 의해 활성화된다는 것을 시사하는 것으로 생각된다.

이에 비하여 본 실험의 방사선조사-정상식이군에서는 방사선비조사-정상식이군에 비하여 치낭에서 혈관과 단핵세포의 수, 그리고 단핵세포의 융합양상이 감소되었으며, 치조골 주위에서도 파골세포의 수가 감소되었다. 또한 치주인대의 섬유모세포의 배열이 불규칙해지고, 섬유모세포의 수도 감소되었으며, 백악모세포가 치근 표면에서 분리되어 주위의 섬유모세포와 혼재되어 있었다. IL-1 항체에 대한 면역염색 결과, 치낭과 치낭 주위 치조골, 그리고 치주인대 부위에서 미약한 면역반응이 관찰되었으며, 상아모세포층에서도 미약한 면역반응을 나타내었다.

방사선의 생물학적 효과는 방사선의 종류, 조사방법, 조사선량, 조사시기 및 방사선에 대한 조직의 감수성에 따라 매우 다양하게 나타나는데,^{47,48} 방사선이 발육 중인 치아에 미치는 영향에 대해, Guggenheimer 등⁴⁹은 치아 구조의 이상과 발육장애를, Matthews와 Cameron⁵⁰은 상아질의 침착률 감소와 치아의 맹출지연을, Rohrer 등⁵¹은 치주인대 섬유유리질화, 세포수의 현저한 감소, 그리고 혈관의 확장 과 수의 감소를 보이는 치주인대의 변성을 보고한 바 있다. 또한 Marx와 Johnson⁵²은 방사선에 의한 치주인대의 손상의 결과로 충혈, 동맥내막염, 혈전증, 세포수와 혈관분포의 감소 및 섬유화가 발생된다고 하였고, Burstone³⁷은 방사선이 Hertwig 상피뿌리집에 손상을 주어 치근의 발육 과정에 변화를 일으키므로 조직분화가 발생되지 않는다고 하였는데, 방사선은 기본적으로 세포의 분열과 혈관에 장애를 유발시킨다. 본 실험의 방사선조사-정상식이군에서도 혈관과 세포 수의 감소, 섬유모세포의 불규칙한 배열 등 치아의 발육장애와 맹출장애가 관찰되었고, IL-1 항체에 대한 면역반응도 방사선비조사-정상식이군에 비하여 미약하게 발현되었던 것은 방사선조사로 인하여 섬유모세포, 백악모세포 등이 손상을 받았을 뿐만 아니라 방사선에 의해 치낭내 혈관의 분포가 감소되었고, 이로 인해 단핵세포의 치낭내로의 유입이 감소되었기 때문인 것으로 판단된다.

한편 본 실험의 방사선조사-저칼슘식이군에서는 치낭 세포층의 밀도와 골세포의 밀도가 현저히 감소되었으며, 치조골의 발생이 미약했을 뿐만 아니라 골모세포층은 덜 분화된 세포층으로 형성되어 있었다. 또한 치근 표면의 백악모세포와 섬유모세포가 위축되었고, 교원섬유도 가늘고

불규칙하였다. IL-1 항체에 대한 면역염색 결과, 치낭 부위의 세포층에서는 면역반응이 거의 나타나지 않았을 뿐만 아니라, 치주인대와 치조골, 그리고 골세포의 세포질에서도 면역반응이 거의 관찰되지 않았다. 이와 같이 본 실험에서 방사선조사-저칼슘식이군의 경우 방사선비조사-정상식이군은 물론, 방사선조사-정상식이군에 비하여서도 IL-1의 면역반응이 전반적으로 거의 발현되지 않은 것은 방사선 조사로 인하여 치낭 세포와 골세포의 수가 현저히 감소되었고, 섬유모세포와 백악모세포의 기능이 장애를 받아 치아의 발육장애와 맹출장애가 유발되었을 뿐만 아니라 저칼슘식이로 인한 칼슘결핍이 이들의 장애를 심화시킨 것으로 생각되는데, 최와 이⁵³는 저칼슘식이만 투여한 경우에는 치주인대의 섬유모세포의 현저한 증가, 교원섬유의 불규칙한 배열이, 방사선만 조사한 경우에는 치주인대의 섬유모세포의 현저한 감소와 교원섬유의 불규칙한 배열이, 저칼슘식이를 투여하고 방사선을 조사한 경우에는 치주인대 조직의 파괴가 관찰되었다고 하였다. 또한 Kurita⁵⁴는 방사선에 의하여 골모세포의 장애가 발생되면 미토콘드리아의 칼슘저장이 증가되고, 주위 골조직으로부터 칼슘의 이동이 발생되며, 저칼슘상태로 인한 칼슘공급의 저하로 골조직의 소실이 증가된다고 한 바 있으나, 방사선이나 저칼슘식이에 의한 칼슘결핍이 IL-1의 분포에 미치는 영향에 관하여서는 현재까지 밝혀진 바 없으므로 향후 이에 관하여서는 지속적인 연구가 필요할 것으로 사료된다.

이상의 연구로 보아 방사선조사는 치아의 발육 및 맹출과 관련하여 치낭세포, 주위 치조골과 섬유모세포의 분화와 발육에 영향을 주는 것으로 생각되며, 저칼슘식이는 기질의 생성, 분비 및 석회화 과정에서 방사선과 함께 복합적으로 작용하여 치아의 발육장애와 맹출장애 및 치조골의 형성장애를 심화시킨 것으로 생각되는 바, 향후에는 이러한 요인으로 인한 치아 형성장애의 기전을 정확히 밝히기 위한 분자생물학적 수준의 연구가 진행되어야 할 것으로 생각된다.

참 고 문 헌

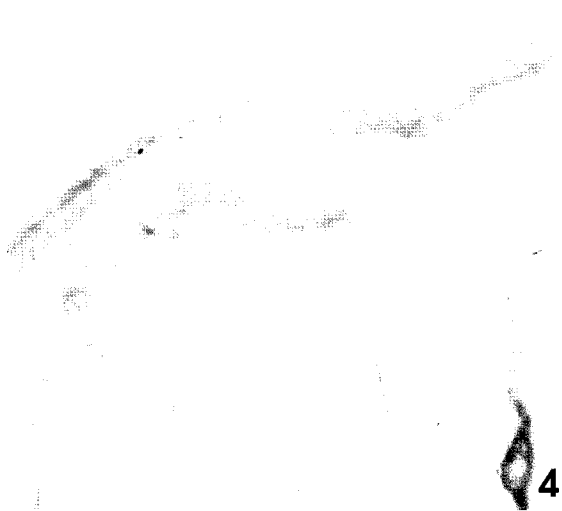
1. Wise GE, Huang G, Que BG. Gene expression of potential tooth eruption molecules in the dental follicle of the mouse. *Eur J Oral Sci* 1999; 107: 482-6.
2. Cahill DR, Marks Jr SC. Tooth eruption: Evidence for the central role of the dental follicle. *J Oral Path* 1980; 9: 189-200.
3. Marks Jr SC, Cahill DR. Regional control by the dental follicle of alterations in alveolar bone metabolism during tooth eruption. *J Oral Path* 1987; 16: 164-9.
4. Bellows CG, Melcher AH, Aubin JE. An in-vitro model for tooth eruption utilizing periodontal ligament fibroblasts and collagen lattices. *Archs Oral Biol* 1983; 28: 715-22.
5. Wise GE, Que BG, Lumpkin SJ. Implication for tooth eruption of the effect of interleukin-1 α on nuclear factor- κ B gene expression in the rat dental follicle. *Archs Oral Biol* 1999; 44: 961-7.

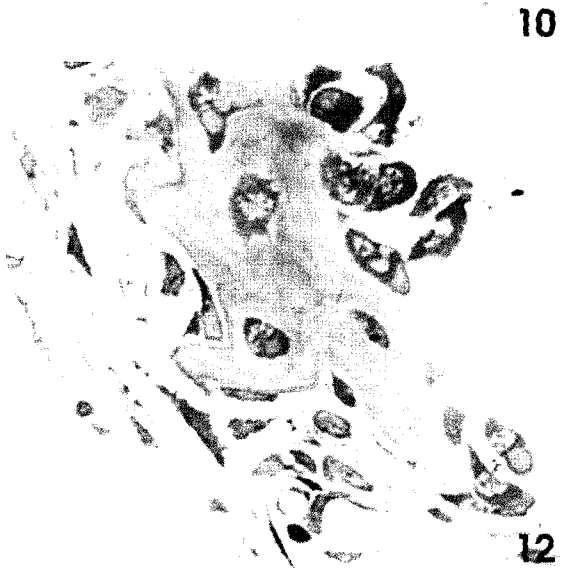
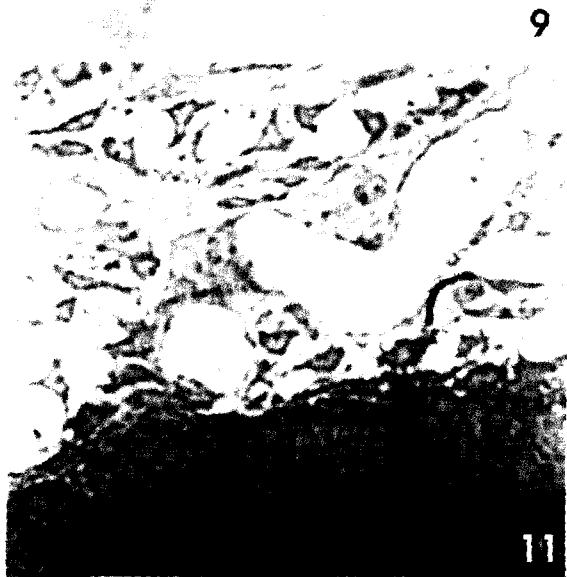
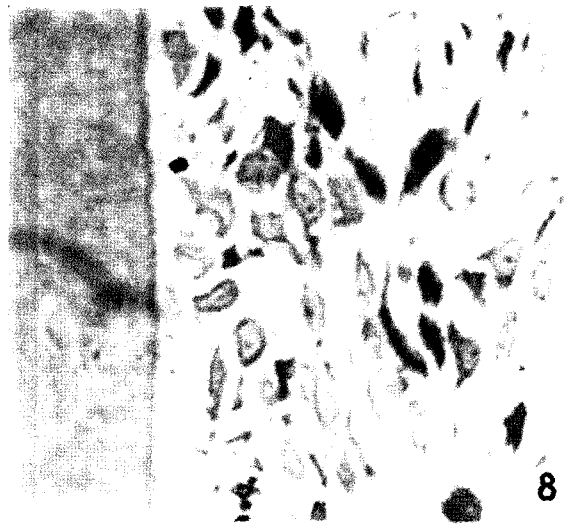
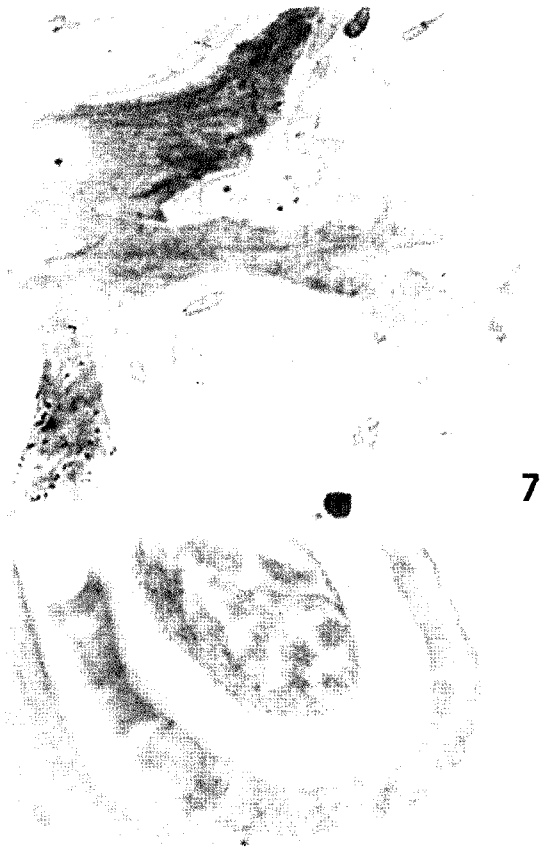
6. Dinarello CA. Interleukin-1. *Rev Inf Dis* 1984 ; 6 : 51-95.
7. Lorenzo JA, Sousa SL, Alander C, Raisz LG, Dinarello CA. Comparison of the bone-resorbing activity in the supernatants from phytohemagglutinin-stimulated human peripheral blood mononuclear cells with that of cytokines through the use of an antiserum to interleukin-1. *Endocrinology* 1987 ; 121 : 1164-70.
8. Sato K, Fuji Y, Kasono K, Saji M, Tsushima T, Shizume K. Stimulation of prostaglandin E and bone resorption by recombinent human interleukin-1 α in fetal mouse bones. *Biochem Biophys Res Commun* 1986 ; 138 : 618-24.
9. Gartner LP, Hiatt JL, Provenza DV. Effect of ionizing radiation on incisor development of the prenatal mouse. *Acta Anat* 1977 ; 98 : 367-75.
10. 猪 宏史. ラット切齒根尖部に對する放射線限局照射の影響. *東北醫誌* 1971 ; 82 : 331-55.
11. Väänänen HK. Pathogenesis of osteoporosis. *Calcif Tissue Int* 1991 ; 49 : 11-4.
12. Messer HH, Guo MK. Lack of relation of pulp Ca²⁺-, Mg²⁺-ATPase to mineralization rate in rat incisor dentine in response to vitamin and calcium intake. *Archs Oral Biol* 1979 ; 24 : 271-5.
13. Nordin BEC. Osteomalacia, osteoporosis and calcium deficiency. *Clin Orthop* 1960 ; 17 : 235-58.
14. Cloutier MD. Juvenile osteoporosis: report of a case including a description of same metabolic and microradiographic studies. *Pediatrics* 1967 ; 40 : 649-55.
15. Nordin BEC. Investigation of bone metabolism with ⁴⁷Ca-preliminary report. *Proc Roy Soc Med* 1959 ; 52 : 351-3.
16. Isselbacher KJ, Braunwald E, Wilson JD, Martin JB, Fauci AS, Kasper DL. *Harrison's principles of internal medicine*. 13rd ed McGraw-Hill Inc; 1994. p. 2172-7.
17. Shklar G, McCarthy PL. *The oral manifestations of systemic disease*. Butterworth Inc; 1976. p. 222.
18. Oliver WM. The effect of deficiencies of calcium, vitamin D, or calcium and vitamin D and of variations in the source of dietary protein on the supporting tissues on the rat molar. *J Periodont Res* 1969 ; 4 : 56.
19. Parfitt AM. Trabecular bone architecture in the pathogenesis and prevention of fracture. *Am J Med* 1987 ; 82 : 68-72.
20. Shoshan S, Pisanti S. The metabolic effect of low calcium intake on collagen of bone and dental structures in the rat. *Archs Oral Biol* 1971 ; 16 : 791-800.
21. Lozupone E, Favia A. Effects of a low calcium material and weaning diet on the thickness and microhardness of rat incisor enamel and dentin. *Archs Oral Biol* 1989 ; 34 : 491-8.
22. Bonucci E, Lozupone E, Silvestrini G, Favia A, Mocetti P. Morphological studies of hypomineralized enamel of rat pups on calcium-deficient diet, and of its changes after return to normal diet. *Anat Rec* 1994 ; 239 : 379-95.
23. Silverman S. Radiation effects. In: *Oral cancer* 2nd ed. The American Cancer Society; 1975. p. 70-8.
24. William C, Rebert W. Effects of radiation on the developing dentition and supporting bone. *J Am Dent Assoc* 1980 ; 101 : 646-8.
25. Frandsen AM. Periodontal tissue changes induced in young rats by roentgen irradiation on plaque and periodontal health. *Int J Periodont Restor Dent* 1989 ; 9 : 197.
26. Meyer J, Shklar G, Turner J. A comparison of the effects of 200 kV radiation and dental structure of white rat. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1962 ; 15 : 1098.
27. Leist M. The effect of X-ray and radium on the teeth and jaws. *Strahlen Therapie* 1927 ; 24 : 268.
28. Smith RA. Effects of X-rays on the developing teeth of rats. *Am J Orthod* 1938 ; 24 : 428.
29. Burstone MS. The effects of X-ray irradiation on the teeth and supporting structures of the mouse. *J Dent Res* 1950 ; 29 : 220-36.
30. Medak H, Weinerb M, Sicher H, Weinmann JP, Schour I. The effect of single doses of irradiation upon the tissues of the upper rat incisor. *J Dent Res* 1952 ; 31 : 359-74.
31. English JA, Tullis JL. Oral manifestations of ionizing radiation. I. Oral lesions and effect on developing teeth of swine exposed to 2000 K.V. total body X-ray irradiation. *J Dent Res* 1951 ; 30 : 33.
32. Dale PP. The effect of X-ray irradiation on the rat incisor. *J Dent Res* 1953 ; 32 : 117-25.
33. Semba SE, Mealey BL, Hallmon WW. The head and neck radiotherapy patient; part 1-oral manifestations of radiation therapy. *Compendium* 1994 ; 15 : 250, 252-60.
34. Mealey BL, Semba SE, Hallmon WW. The head and neck radiotherapy patient; part 2-management of oral complications. *Compendium* 1994 ; 15 : 442-52.
35. Nwoku AL, Koch H. Effect of radiation injury on the growing face. *J Max Fac Surg* 1975 ; 3 : 28-34.
36. Russell LB. Analysis of the changing radiation response of the developing mouse embryo. *J Cell Comp Physiol* 1954 ; 43 : 103.
37. Burstone MS. The effect of radioactive phosphorus upon development of the embryonic tooth bud and supporting structures. *Am J Pathol* 1951 ; 27 : 21-39.
38. Nasu M, Amano Y, Kurita A, Yosue T. Osseointegration in implant-embedded mandible in rats fed calcium-deficient diet: a radiological study. *Oral Disease* 1998 ; 4 : 84-9.
39. Growen M, Wood OD, Ihrle EJ, McGuire MCB, Russel RGG. An interleukin-1 like factor stimulates bone resorption in vitro. *Nature* 1983 ; 306 : 378-80.
40. Teitelbaum SL, Kahn AJ. Mononuclear phagocytes, osteoclasts and bone resorption. *Min Electrolyte Metab* 1980 ; 3 : 2-9.
41. Gery I, Gershon RK, Waksman BH. Potentiation of cultured mouse thymocyte responses by factors released by peripheral leukocytes. *J Immunol* 1971 ; 107 : 1778-80.
42. Cotran RS. New roles for the endothelium in inflammation and immunity. *Am J Pathol* 1987 ; 129 : 407-13.
43. Dunn CJ, Fleming WE. Increased adhesion of polymorphonuclear leukocytes to vascular endothelium by specific interaction of endogenous (interleukin-1) and exogenous (lipopolysaccharide) substances with endothelial cells in vitro. *Eur J Rheum* 1986 ; 7 : 80-6.
44. Magnusson B. Tissue changes during molar tooth eruption. *Trans Roy Sch Dent* 1986 ; 13 : 1-122.
45. Schmidt JA, Mizel SB, Cohen D, Green I. Interleukin-1, a potential regulator of fibroblast proliferation. *J Immunol* 1982 ; 128 : 2177-82.
46. Postlethwaite AE, Lachman LB, Kang AH. Induction of fibroblast proliferation by interleukin-1 derived from human monocytic leukemia cells. *Arthritis and Rheumatism* 1984 ; 27 : 995-1001.
47. Coady JM, Santagelo MV, Toto PD. Gamma-irradiated mouse incisor. *J Dent Res* 1967 ; 46 : 681-5.
48. Poyton HG. The effects of radiation on teeth. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1968 ; 26 : 639-46.
49. Guggenheimer J, Fischer WG, Pechersky JL. Anticipation of dental anomalies induced by radiation therapy. *Radiology* 1975 ; 117 : 405-406.
50. Mattews JL, Cameron JA. Effects of intrauterine X-radiation on the bones and teeth of mice. *J Dent Res* 1959 ; 36 : 666.

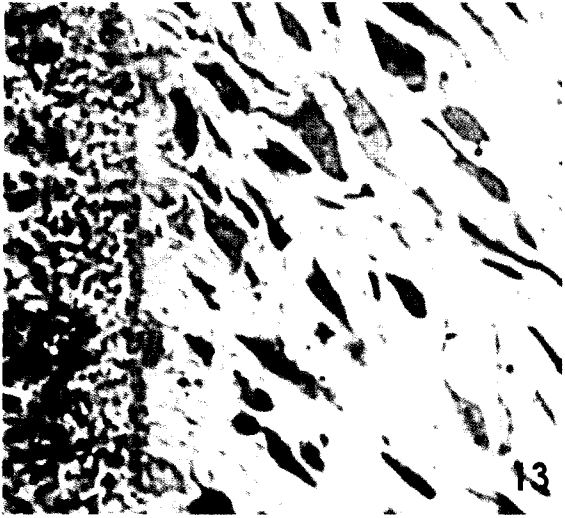
51. Rohrer MD, Kim Y, Fayos JV. The effect of cobalt-60 irradiation on monkey mandibles. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1987; 64: 379-90.
52. Marks RE, Johnson RP. Studies in the radiobiology of osteoradionecrosis and their clinical significance. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1987; 64: 379-90.
53. 최문철, 이상래. 방사선조사가 저칼슘식이 백서 치주조직에 미치는 영향에 관한 연구. *대한구강악안면방사선학회지* 1992; 22: 223-39.
54. Kurita A. The effect of X-ray radiation on mandibular bone of low calcium diet rats. *Shigaku* 1991; 79: 341-63.

Explanation of Figures

- Fig. 1.** A microphotograph of the dental follicle of the developing tooth bud in the non-irradiation/normal diet group. There are a lot of blood vessels, mononuclear cells and fusion of mononuclear cells. (toluidin blue staining, original magnification $\times 400$)
- Fig. 2.** A microphotograph of the alveolar bone adjacent to the dental follicle in the non-irradiation/normal diet group. There are a lot of osteoblasts and osteoclasts on the surface of alveolar bone adjacent to the dental follicle. (toluidin blue staining, original magnification $\times 400$)
- Fig. 3.** A microphotograph of the periodontal ligament of the developing tooth bud in the non-irradiation/normal diet group. A lot of cementoblast and fibroblasts show adjacent to the surface of developing root dentin and fibroblasts secrete processes to the surface of cementum. (toluidin blue staining, original magnification $\times 400$)
- Fig. 4.** A immunohistochemical micrograph of the crown region of the developing tooth bud in the non-irradiation/normal diet group. The dental follicle and surface of alveolar bone adjacent to the dental follicle show strong immunoreactivity. (anti-IL-1, original magnification $\times 100$)
- Fig. 5.** A immunohistochemical micrograph of the root region of the developing tooth bud in the non-irradiation/normal diet group. Moderate immunoreactivity is shown in periodontal ligament. (anti-IL-1, original magnification $\times 100$)
- Fig. 6.** A microphotograph of the dental follicle of the developing tooth bud in the irradiation/normal diet group. The number of the blood vessels, mononuclear cells and fusion of mononuclear cells are decreased. (toluidin blue staining, original magnification $\times 400$)
- Fig. 7.** A microphotograph of the alveolar bone adjacent to the dental follicle in the irradiation/normal diet group. The number of osteoclast and osteoblast are decreased. (toluidin blue staining, original magnification $\times 400$)
- Fig. 8.** A microphotograph of the periodontal ligament of the developing tooth bud in the irradiation/normal diet group. The number of fibroblast and cementoblast are decreased and fibroblasts show irregular arrangement. (toluidin blue staining, original magnification $\times 400$)
- Fig. 9.** A immunohistochemical micrograph of the crown region of the developing tooth bud in the irradiation/normal diet group. The dental follicle and surface of alveolar bone adjacent to the dental follicle show weak immunoreactivity. (anti-IL-1, original magnification $\times 100$)
- Fig. 10.** A immunohistochemical micrograph of root region of the developing tooth bud in the irradiation/normal diet group. Weak immunoreactivity is shown in periodontal ligament. (anti-IL-1, original magnification $\times 100$)
- Fig. 11.** A microphotograph of the dental follicle of the developing tooth bud in the irradiation/calcium-deficient diet group. The number of the blood vessels, mononuclear cells and fusion of mononuclear cells are rare. (toluidin blue staining, original magnification $\times 400$)
- Fig. 12.** A microphotograph of the alveolar bone adjacent to the dental follicle in the irradiation/calcium-deficient diet group. The number of osteoclast and osteoblast are rare, and newly formed bones are also rare. (toluidin blue staining, original magnification $\times 200$)
- Fig. 13.** A microphotograph of the periodontal ligament of the developing tooth bud in the irradiation/calcium-deficient diet group. Atrophy of cementoblast and fibroblast show around dentin surface and collagen fibers are fine and irregular. (toluidin blue staining, original magnification $\times 400$)
- Fig. 14.** A immunohistochemical micrograph of the crown region of the developing tooth bud in the irradiation/calcium-deficient diet group. The dental follicle and alveolar bone show no immunoreactivity. (anti-IL-1, original magnification $\times 100$)
- Fig. 15.** A immunohistochemical micrograph of the root region of the developing tooth bud in the irradiation/calcium-deficient diet group. Periodontal ligament shows no immunoreactivity. (anti-IL-1, original magnification $\times 100$)







15