

人 發育齒胚의 糖原反應

서울대학교 齒科大學 口腔解剖學敎室

高在丞 · 林明洙 · 金永昌

GLYCOGEN IN THE DEVELOPING HUMAN TOOTH GERM.

Jea Seung Ko, D.D.S., Myoung Su Lim, D.D.S.,

Young Chang Kim, D.D.S.

Dept. of Oral Anatomy, College of Dentistry, Seoul National University.

» Abstract «

The authors observed the glycogen distribution in the developing human tooth germ, up to the stage where the first enamel matrix had formed. The materials were fixed in Carnoy's solution and formol-alcohol, and embedded in paraffin with vaccum pump. The sagittal and coronal sections were cut at 8 μ . The staining methods for glycogen were alcian blue-PAS method, Bauer's method and Best's carmine stain. Control sections were treated with 0.1% diastase solution for thirty minutes at 37°C.

The results were as follows:

1. Glycogen was present in the dental lamina, stellate reticulum, stratum intermedium, outer enamel epithelium and inner enamel epithelium.
2. When the inner enamel epithelium differentiated to the organizing stage of ameloblast, gradual acquisition of glycogen was shown in the ameloblast. But a rapid decline in the glycogen concentration followed, with disappearance from the ameloblasts at the onset of amelogenesis.
3. It seemed that no glycogen was present within the odontoblasts.

I. 緒 論

齒牙는 消化器系 上端의 粘膜을 形成하는 外中胚葉에서 起源하는 것으로서 外胚葉에서 珐瑯器가 分化되고, 中胚葉에서 齒乳頭와 齒囊이 [分化되며 이들에 依하여 生成된 基質의 鑲化에 따라 齒牙硬組織이 形成되는 것이다.

發育齒胚에서 糖原의 重要性에 關한 業績이 多數 報告되어 왔는데, 口腔上皮, 齒提, 外珐瑯上皮 및 珐瑯髓

에 糖原이 含有되어 있음은 周知의 事實이다. 그러나 中間層, 造珐瑯細胞 및 造象牙細胞에서는 糖原의 含有與否에 對하여 論難의 對像이 되어왔고, 意見의 一致를 보지 못하였다¹⁾. Glock²⁾는 白鼠齒胚의 中間層, 造珐瑯細胞에는 糖原이 없다고 하였으며, Horowitz³⁾는 造珐瑯細胞 및 造象牙細胞에서 出現치 않는다고 하였다. Bevelander等⁴⁾은 豚齒胚의 中間層 및 未分化造珐瑯細胞에서 그 存在를 報告하였고, Engel等⁵⁾은 白鼠前齒部齒胚에서 發生 初期에 中間層, 造珐瑯細胞 및 造象牙細胞에 存在하나, 臼齒部 齒胚의 造珐瑯細胞 및 造象牙細胞

胞에는 出現치 않는다고 하였다. 또한 Wislocki等¹⁵⁾ 및 Wislocki等¹⁷⁾은 人齒胚의 中間層, 造珐瑯細胞 및 造象牙細胞에서 糖原이 含有되어 있음을 報告한바 있으나, Tencate¹⁵⁾ 및 Garant等⁵⁾은 形成期의 造珐瑯細胞 및 造象牙細胞에는 없다고 하였다.

이에 著者들은 人齒胚 發育時에 糖原의 動態를 檢索하여 어느 程度 所見의 一端을 窺知하였기에 이를 報告하는 바이다.

II. 研究材料 및 方法

胎齡 7週 乃至 8週의 人胎兒 頭部(3例)와 胎齡 12週 乃至 16週의 人胎兒 下顎骨(3例)를 切除하여 Carnoy液 및 formol-alcohol에 固定한 後 脫灰하지 않고 眞空包埋法(300mmHg)에 依하여 paraffin包埋한 後 矢狀縫合切斷 및 冠狀縫合切斷으로 8 μ 連續切片을 만들었다.

組織化學의 染色方法으로는 alcian blue-PAS反應(Mowry)¹¹⁾, Bauer染色法¹⁰⁾, Best의 carmine染色¹⁰⁾이 이용되었으며, 糖原檢索의 對照標本은 0.1% diastase 溶液에서 37°C에 30分間 處理하였다⁹⁾.

III. 研究成績

原始口腔上皮에서 齒提가 形成되고, 이어서 蕾狀期의 齒胚가 形成되면, 珐瑯器의 中心部는 多角形細胞로 構成되고 基底細胞層은 單圓柱上皮細胞로 이뤄진다. 杯狀期 齒胚로 分化되면 珐瑯器에는 立方細胞의 外珐瑯上皮, 圓柱細胞로 構成된 內珐瑯上皮 및 星狀細胞가 突起에 依하여 相互 連結된 珐瑯髓가 出現하게 되며, 珐瑯器의 乳頭面側에 間葉細胞가 密集된 齒乳頭가 形成되고, 珐瑯器와 齒乳頭外側에는 間葉에서 齒囊이 分化된다. 鐘狀期 齒胚로 進展되면 造珐瑯上皮는 單立方細胞가 되며 珐瑯髓와 內珐瑯上皮사이에 2 乃至 4層의 扁平細胞로 構成된 中間層이 發生된다. 硬組織 形成直前에 內珐瑯上皮가 分化되어 器化期(organizing stage)의 造珐瑯細胞가 되면 細胞는 長大하여 지며, 이어서 隣接한 間葉細胞가 造象牙細胞로 分化되어 象牙質을 形成하게 된다. 象牙質 形成直後 器化期의 造珐瑯細胞가 短小하여 지면서 形成期의 造珐瑯細胞로 分化되어 珐瑯質을 形成하게 된다. 硬組織形成이 開始되면 即時 部位의 珐瑯髓는 그 厚徑이 急速히 減少되며, 아울러 外珐瑯上皮 外側에는 毛細血管이 豊富하게 發達된다.

alcian blue-PAS反應所見에서 口腔上皮 및 齒提의 細胞에는 여러 크기의 球形 或은 不定形의 顆粒狀 또는 瀰慢性으로 濃染되는 糖原이 出現하였으며, 間葉組

織內에 여러 크기의 糖原顆粒이 中等度로 存在하였다. 그러나 酸性粘液多糖類는 上皮細胞 및 間葉에서 陰性으로 보였다. 蕾狀期齒胚의 珐瑯器는 齒提에서 보다 糖原이 若干 減少되는 傾向이었으며, 中心部의 多角形細胞가 基底層의 圓柱細胞보다 많은 量을 含有하고 있었다. 杯狀期齒胚의 珐瑯器에는 蕾狀期齒胚의 珐瑯器에서와 거의 비슷한 程度로 糖原이 含有되었으나 酸性粘液多糖類가 極히 微弱하게 出現하기 始作하였다. 또한 杯狀期齒胚의 齒囊에서는 中等度의 糖原顆粒이 存在하였으나, 齒乳頭의 酸性粘液多糖類는 蕾狀期의 間葉에서 보다 若干 增加되는 傾向이었다. 鐘狀期 齒胚가 되면, 外珐瑯上皮 및 그 下部에 있는 2 乃至 3層의 細胞에는 糖原이 多量으로 存在하였고, 中間層 및 內珐瑯上皮에 中等度로, 珐瑯髓에는 少量含有되어 있었다. 內珐瑯上皮가 器化期의 造珐瑯細胞로 分化됨에 따라 糖原은 매우 增加되었으나 珐瑯質形成이 開始됨에 따라 形成期의 造珐瑯細胞 및 中間層에서 糖原이 激減되고 거의 消失되어 보였다. 한편 齒乳頭에는 糖原이 若干 存在하나 造象牙細胞에는 거의 存在하지 않는 傾向이었다. diastase處理後에도 形成期의 造珐瑯細胞 및 造象牙細胞는 PAS陽性物質을 含有하고 있었다. 酸性粘液多糖類反應에서 珐瑯髓細胞는 中等度로 出現하였으며, 齒乳頭에는 多量含有되어 보였으나, 造象牙細胞 및 造珐瑯細胞는 거의 陰性으로 보였다.

Bauer染色法 및 Best의 carmine染色에서는 PAS反應과 거의 비슷하게 糖原이 檢索되었으나, 造象牙細胞 및 齒乳頭에서는 거의 陰性으로 보였다.

IV. 考 按

糖原의 組織化學的 檢索에는 iodine溶液에 依한 染色, Best의 carmine染色, Bauer 染色法, PAS反應 및 lead tetra-acetate染色^{2, 3, 10)} 등이 利用되고 있다. 發育齒胚의 糖原에 關한 여러 學者들의 研究結果가 相異함은 動物의 種類 및 染色法의 異差에 基因하는 것으로 思料된다. 本 研究에서도 造珐瑯細胞 및 齒乳頭에서 Best의 carmine染色이나 Bauer染色法으로 檢出되지 않던 糖原이 PAS反應에서 檢索되는 것으로 보아 PAS反應이 가장 좋은 糖原檢索法이라고 思料된다.

Jenkins⁹⁾는 糖原이 石灰化나 粘液多糖類形成과 關聯이 있다면 基質形成동안에 造珐瑯細胞에 存在하여야 한다고 주장하였고, Glasstone⁶⁾은 生後 2日에 齒牙發生과는 相關없이 糖原이 消失됨을 觀察하고 이는 新生兒에서 일어나는 代謝의 變化現象이라고 하였다. 그러나 Tencate¹⁵⁾는 相異한 胎齡에서 糖原이 消失됨은 基質形

성과 밀접한 關聯이 있다고 主張하였다.

本 研究에서 齒牙發生 初期의 齒胚에서 珐瑯器의 모든 細胞가 糖原을 含有하였고, 內珐瑯上皮가 器化期의 造珐瑯細胞로 分化됨에 따라 糖原이 增加되었으나 珐瑯質을 形成하는 形成期의 造珐瑯細胞 및 中間層에서 거의 消失되었다. 이와같이 基質形成동안 含有된 糖原이 消失되는 것으로 보아, 糖原이 에너지供給 및 蛋白質 構成 要素供給에 利用되는지도 모른다. 特히 內珐瑯上皮 및 中間層에 나타나는 糖原은 hexose phosphate의 初期 供給源으로 利用되어 酸性粘液多糖類合成에 關與할런지도 모른다^{12, 14}). 또한 杯狀期 齒胚의 珐瑯髓에 少量으로 存在하던 酸性粘液多糖類가 鐘狀期 齒胚의 珐瑯髓에서 增加함은 酸性粘液多糖類合成과 關聯이 있는 것으로 推定할 수도 있겠다.

珐瑯基質形成 初期에 造珐瑯細胞 및 中間層에 糖原이 消失되면서, 珐瑯髓의 厚徑이 減少하며 그 結果 外珐瑯上皮 外側으로 부터 血液供給이 容易하여 지므로서 hexose phosphate가 赤血球에서 供給될 수 있을 것으로 생각된다.

造象牙細胞에서 diastase處理後에도 PAS陽性物質이 存在하는 것으로 보아 糖蛋白이라고 思料되며, 또한 造珐瑯細胞에서와는 달리 糖原이 含有되어 있지 않음은 齒乳頭에 血管이 豊富하게 發達되어 있기 때문인 것 같다.

V. 結 論

人胎兒 6例(胎齡 7週 乃至 16週)의 齒提 및 齒胚에서 8 μ 의 paraffin連續切片을 만들어 alcian blue-PAS反應 (Mowry), Bauer染色法 및 Best의 carmine染色을 實施하여, 糖原의 動態를 觀察한바 다음과 같은 結論을 얻었다.

1. 糖原은 齒提와 齒胚의 珐瑯髓, 中間層 및 內外珐瑯上皮에 含有되어 있었다.

2. 內珐瑯上皮가 器化期의 造珐瑯細胞로 分化되면 糖原이 增加되며, 珐瑯基質形成이 開始되면 即時 激減되는 傾向이었다.

3. 造象牙細胞에는 糖原이 含有되어 있지 않는 것으로 보였다.

參 考 文 獻

- 1) Bevelander, G., and Johnson, P.L.: The Histochemical localization of Glycogen in the Developing Tooth, J. Cell. & Comp. Physiol., 27:129, 1946.
- 2) Culling, C.F.A.: Handbook of Histopatholo-

gical and Histochemical Techniques, 3rd Ed., Butterworths, 1974.

- 3) Drury, R.A.B., Wallington, E.A., and Cameron, R.: Carleton's Histological Technique, Oxford University Press, 1967.
- 4) Engel, M.B.: Glycogen and Carbohydrate-protein Complex in Developing Teeth of the Rat, J. Dent. Res., 27:681, 1948.
- 5) Garant, P.R.: Glycogen Storage within Undifferentiated Cells of the Dental Papilla: Electron Microscope Findings, J. Dent. Res., 47, 699, 1968.
- 6) Glasstone, S.: Glycogen in the Developing teeth of Rodents, Brit. Dent. J., 105:256, 1958.
- 7) Glock, G.E.: Glycogen and Calcification, J. Physiol., 98:1, 1940.
- 8) Horowitz, H.: Histochemical Study of Phosphatase and Glycogen in Fetal Heads, J. Dent. Res., 21:519, 1942.
- 9) Jenkins, G.N.: The Physiology of the Mouth, 3rd Ed., Blackwell Scientific Publications, 1966.
- 10) McManus, J.F.A., and Mowry, R.W.: Staining Methods, Harper & Row, 1960.
- 11) Mowry, R.W.: Alcian Blue Technique for the Histochemical Study of Acidic Carbohydrates, J. Histochem. Cytochem., 4:907, 1956.
- 12) Quitarelli, G., and Dellove, M.C.: Mucopolysaccharide Histochemistry of Rat Tooth Germs, Histochemie 3:195, 1963.
- 13) Scheinmann, E., Weinreb, M.M., and Wolman, M.: Histochemical Study of the Ameloblasts and the Enamel Matrix in Rat Molars, J. Dent. Res., 41:1293, 1962.
- 14) Scott, J.H., and Symons, N.B.B.: Introduction to Dental Anatomy, 6th Ed. E. & S. Livingstone, 1971.
- 15) Ten Cate A.R.: Some Histochemical Observations on the Developing Human Tooth Germ, J. Dent. Res., 36:805, 1957.
- 16) Wislocki, G.B., Singer, M., and Waldo, M.: Some Histochemical Reactions of Mucopolysaccharides, Glycogen, Lipids, and other Substances in Teeth, Anat. Rec., 101:487, 1948.
- 17) Wislocki, G.B., and Soganaes, R.F.: Histochemical Reaction of Normal Teeth, Am. J. Anat., 87:239, 1950.



Fig. 1. alcian blue-PAS method.

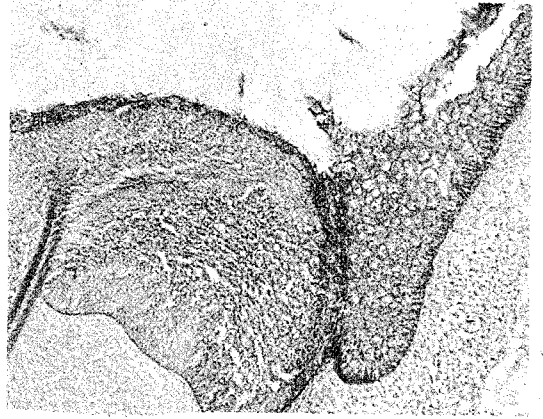


Fig. 2. alcian blue-PAS method.

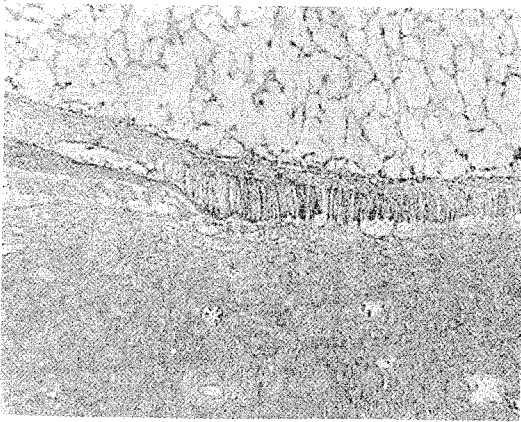


Fig. 3. alcian blue-PAS method.

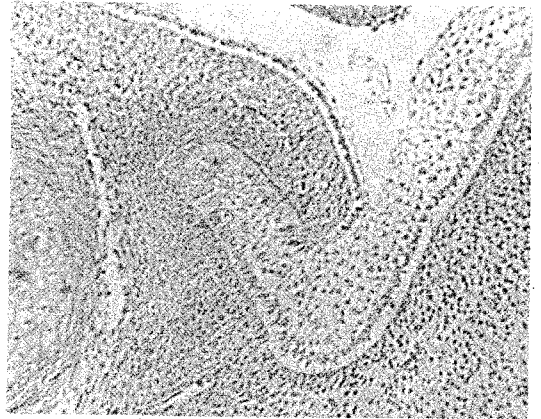


Fig. 4. alcian blue-PAS method with diastase digestion.



Fig. 5. Bauer's method.



Fig. 6. Best's carmine stain.