

# 5-Fluorouracil이 白鼠切齒齒髓의 纖維芽細胞의 蛋白合成에 미치는 影響에 關한 自記放射法의 研究

서울대학교 齒科大學 口腔外科學敎室

<指導 : 金 用 瑄 敎授>

鄭 建 容

## EFFECTS OF 5-FLUOROURACIL ON THE FIBROBLAST OF THE PULP OF THE RAT INCISOR

—A STUDY BY QUANTITATIVE RADIOAUTOGRAPHY—

Keun Yong Chung, D. D. S.

*Dept. of Oral Surgery, College of Dentistry,  
Seoul National University*

(Director : Yong Kwan Kim, D. D. S., Ph. D.)

.....> Abstract <.....

Forty-two young adult male rats were used. Experimental animals were given an intramuscular injection of 5-Fluorouracil 50mg per kg of body weight. Animals were sacrificed 1, 3, 5, 7, 10, 14 and 21 days after injection of the 5-fluorouracil. The animals were given an intraperitoneal injection  $3\mu\text{c}$  of leucine- $^3\text{H}$  per gm of body weight at 30 minutes prior to sacrifice. The specific activity of the leucine- $^3\text{H}$  was 250mc per mM.

Under ether anesthesia mandibles were rapidly dissected out and bisected through the midline. Using a pair of shears, the mandible was separated from temporomandibular joint. Then, the tooth was removed from the mandible and briefly dipped in 2% paraformaldehyde-glutaraldehyde (24.5%) EM in phosphate buffer.

The partially calcified dentine from the proximal portion was separated from the pulp, which in turn was removed from the hard shell of dentine by gently pulling with Jeweller's forceps.

The midportion of the pulp was cut into small piece approximately  $1\text{mm}^3$  in size and fixed for 3 hours in 2% paraformaldehyde-glutaraldehyde (24.5%) EM in phosphate buffer.

The tissues were briefly rinsed in the buffer, dehydrated and embedded in a mixture of Epon in a routine manner. One micron sections were made on Sorvall Porter Blum MT-1 Ultramicrotome. The slides were coated with Kodak NTB-3

liquid emulsion, and kept in a completely sealed slide box containing Drierite at 4°C for a period of 3 weeks.

Radioautographs were developed in Kodak Dolmi and tissues were stained with toluidine blue 0 immediately following the development.

Quantitative evaluation of radioautographic grains was made under a 100× oil immersion lens. Grains overlying the cytoplasm of individual fibroblasts were counted in each animals. At least twenty cells were counted from midportion of each pulp.

The purpose of the present investigation was to determine, by means of quantitative autoradiography, the effect of 5-fluorouracil on the synthesis of protein of fibroblasts of the pulp in the continuously growing rat incisors.

The results were as follows;

1. The effects of 5-fluorouracil on body weight were produced significant decrease during the first 5 days followed by a gradual recovery thereafter.
2. Results of grain counts of radioautographs at various times following an injection of 5-fluorouracil indicate that there is a progressive decrease in incorporation of isotope by fibroblasts which reaches a maximum decrease on day 7 and subsequently regenerate to a near normal value by the end of the experiment on day 21.
3. It is concluded that the result can be applied to protein synthesizing connective tissue cells in various tissues.

## I: 緒 論

5-Fluorouracil은胃腸管, 乳房, 女性生殖系 및 皮膚等に發生한 癌患者의 治療에 使用하고 있는 抗癌劑<sup>1, 5, 16, 51, 79)</sup>이고, 癌患者의 治療에 도움이 된다고 생각되는 生化學的機轉은 Thymidylate Synthetase의 形成을 抑制하므로써 DNA 合成이 停止되고, 또 Uracil의 5-Position의 水素가 弗素와 置換되므로써 非正常RNA가 合成되기 때문이다.

5-Fluorouracil에 對한 研究는 그동안 여러分野에 많이 應用되어 왔으나, 結合組織 特別 齒髓組織의 蛋白合成에 關하여는 찾아본 範圍內에서는 없는것 같다.

齒髓組織의 纖維芽細胞는 星狀 或은 紡錘狀이고, 하나 또는 數個의 原形質突起를 내고 있으며<sup>21, 57, 62, 65, 67, 81, 82)</sup>, 發育時期나 組織損傷時에는 蛋白合成이 活潑히 이루어지는 細胞이다<sup>8, 33, 34, 37, 48, 58, 59, 60, 61)</sup>.

齒髓의 纖維芽細胞의 電子顯微鏡의 所見은 核, 核小體, 中心位, 糸粒體, Golgi 裝置, 粗面小胞體, 空胞, 細胞內纖維(直徑60Å) 및 小囊等을 볼수 있다고 하였고,<sup>33)</sup>

<sup>48, 57)</sup> 이들 要素中 粗面小胞體는 他 結合組織보다 작고, 糸粒體의 Cristae가 少數이라 하였다<sup>57)</sup>.

齒髓組織에는 纖維芽細胞 以外에 血管가 사이에 未分化細胞, 大喚細胞, 遊走細胞, 淋巴球 및 形質細胞等이 있어서 이들 細胞의 區別이 重要하다고 하였다<sup>67)</sup>.

齒髓의 纖維芽細胞는 蛋白의 하나인 膠原과 蛋白多糖類를 合成하여, 이를 細胞밖으로 分泌하는데, 이의 分泌機轉에는 두가지가 있다. 하나는 小胞體에서 直接 細胞壁를 통하여 分泌하는 것과 다른 하나는 小胞體에서 Golgi裝置로 가서 여기서 多糖類와 結合한後 Peripheral Vesicle이 되어 細胞壁를 통하여 分泌한다고 하였다<sup>59)</sup>.

그동안 結合組織中 特別 纖維芽細胞에 關한 研究를 보면, 創傷의 治癒時에 있어서 纖維芽細胞의 膠原合成과 分泌에 關한 自記放射法 및 電子顯微鏡의 研究,<sup>58, 59)</sup> 發育中인 切齒齒髓에 있어서 纖維芽細胞의 超微細構造에 關하여<sup>33)</sup>, Actinomycin D가 白鼠切齒齒髓의 纖維芽細胞의 蛋白合成에 미치는 影響에 關한 組織化學的 自記放射法的 및 電子顯微鏡의 研究<sup>35)</sup>, ActinomycinD 및 Chloramphenicol이 鷄의 結合組織細胞의 蛋白合成에 미치는 影響<sup>2)</sup>, Metacresylacetate 및 Camphorated Chlorophenol이 齒髓組織에 미치는 影響<sup>49)</sup>,

酸素缺乏이 下顎骨下緣에 있어서 皮下結合組織의 纖維芽細胞의 蛋白合成에 미치는 影響<sup>41)</sup>, 스펀지 移植에 있어서 Formocresol의 諸 膿度가 結合組織의 RNA合成에 미치는 影響에 關한 組織學的, 組織化學的 및 自記放射法的研究<sup>44) 71) 72)</sup>, Cortisone-<sup>3</sup>H을 露出된 齒髓에 添附하여 齒髓의 變化<sup>49)</sup>, 發育중인 白鼠에 있어서 初期 齒牙咬合時에 齒髓細胞의 活性<sup>52)</sup>, 實驗的 壞血病에 있어서 豚의 切齒齒髓의 纖維芽細胞의 電子顯微鏡的研究<sup>6)</sup>, 齒髓의 增齡的變化<sup>65) 69)</sup>, 正常, 機能의 狀態 및 Stress 下에 있어서 齒根膜의 纖維芽細胞의 膠原의 形成關係<sup>3) 4) 14) 17)</sup>, 正常 및 病의 狀態에 있어서 齒髓組織의 超微細構造,<sup>33)</sup> 齒髓의 組織化學的研究<sup>78)</sup> 및 齒髓의 纖維芽細胞內의 小線維<sup>39)</sup> 등에 關한 研究가 있다.

以上 先人의 業績을 보아, 5-Fluorouracil로서 齒髓結合組織의 蛋白合成에 關한 研究는 없었고, 齒髓의 纖維芽細胞도 다른 結合組織細胞와 같이 蛋白을 合成하는 細胞로서, 著者는 그동안 5-Fluorouracil이 成長중인 白鼠 切齒齒髓의 纖維芽細胞의 蛋白合成에 어떠한 影響을 미치는가를 調査하였고, 其 結果를 이에 報告하는 바이다.

## II. 實驗材料 및 方法

**實驗動物:** 發育중인 體重 80gm內외의 雄性白鼠(Rat) 42頭를 使用하였고, 42頭中 21頭는 實驗群에 配當하고, 나머지는 對照群에 使用하였다. 實驗群과 對照群의 各 21頭는 動物犧牲時間에 따라서 各各 3頭씩 配當하였다.

**實驗方法:** 5-Fluorouracil을 體重 kg當 50mg을 筋肉注射하고, 注射後 24時間이 經過한 다음을 第1日로 하여, 1日, 3日, 5日, 7日, 10日, 14日 및 21日에 마다 動物를 犧牲시켰고, 犧牲 30分前에 Leucine-<sup>3</sup>H을 體重 gm當 3 $\mu$ C(Specific Activity 250mc/mM)를 腹腔內注射하고, 犧牲直前에 體重을 測定하였다. Ether로 麻醉後 左右中切齒사이의 顯結合部를 分離하여, 左, 右 下顎骨을 顎關節에서 各各 떼어내고, 下顎骨에 附着한 筋肉等 軟部組織을 깨끗이 除去하였다.

骨鉗子로 切齒周圍의 骨組織을 떼어내어 切齒만 남게 하고, 이를 一但 固定液에 넣었다가 꺼내어 Dentin의 Hard Shell內에 들어있는 齒髓를 Jeweller's Forceps로 떼내고, 이를 면도칼로 1mm<sup>2</sup>의 크기로 細切하였다.

**組織標本製作:** 組織標本製作은 1 $\mu$ 의 非薄한 切片을 만들기 爲하에 電子顯微鏡標本製作法에 依하였다.

齒髓의 小切片을 2% Paraformaldehyde-Glutaraldehyde (24.5%) EM in Phosphate buffer에 3時間 固定한 다음, 이를 4% Sucrose가 含有된 Phosphate buf-

fer로 洗滌하고, 脫水는 50% Alcohol로부터 始作하여 70%, 80%, 95%, 100% Alcohol, 그리고 Propylene Oxide+100% Alcohol, Propylene Oxide를 使用하여 完全 脫水하고, 包埋는 Luft<sup>45)</sup>의 方法에 依한 Epon Mixture(Mixture A: Epon 812+DDSA, Mixture B: Epon 812+NMP, Mixture A+B+DMP-30)로 하였다.

Epon Mixture를 Plastic Capsule에 먼저 넣고, 이속에 組織을 넣어 밑으로 가라앉을때까지 기다린後, 이 Capsule을 60°C의 Oven에 넣어 2~3日동안 放置하여 重化시킨다.

Soryall Porter Blum MT-1 Ultramicrotome을 使用하여 유리칼로 1 $\mu$ 두께의 細片을 만들었다.

**自己放射法:** 1 $\mu$ 의 細片을 올려놓은 유리 슬라이드를 染色그릇에 10個씩 넣어, 暗室에 옮기고, 暗室에 있는 Oven(45°C)에 Kodak NTB-3 Nuclear Track Emulsion에 넣어 固體의 Emulsion이 液體가 되도록 溶解시키고, 이를 使用할때에는 Oven에서 꺼내어 45°C의 Water Bath에 담고, 使用하였다.

슬라이드를 核乳液에 2~3秒間 담고, 슬라이드를 씻으면 60度 傾斜가 되게 만든 木構板에 꽂아서 核乳液이 밑으로 흘러내리게 하고, 또 核乳液이 乾燥되도록 45°C의 Drying Oven에 30分間 넣어두었다.

乾燥된 슬라이드를 25枚入 플라스틱製 標本箱子에 넣어, 뚜껑을 닫은後, 光線이 들어가지 않도록 箱子뚜껑과의 틈사이를 검은 電氣테이프로 감고, 다시 鉛板으로 縱橫 二重으로 蓋然後 은층이로 싸고, 또 이를 模造紙로 蓋後 비닐주머니에 넣었다.

이를 冷藏庫(4°C)에 넣어 3週동안 露出케하고, 暗室에서 現像 및 固定을 하였다. 現像液은 Dolmi液(2,4-Diaminophenol Dihydrochloride 0.9gm, Sodium

Table 1. Body Weights of Rats Injected with 5-Fluorouracil (gm)

Day	Mean $\pm$	(S. D.)	Probability	% of Control
1	78.3	(8.3)	<0.05	94.3
3	67.8	(4.8)	<0.01	81.7
5	54.9	(3.2)	<0.001	66.1
7	60.4	(5.6)	<0.001	72.8
10	66.8	(4.2)	<0.01	80.5
14	72.6	(7.8)	<0.02	87.5
21	77.5	(6.9)	<0.05	93.4

### III. 實驗成績

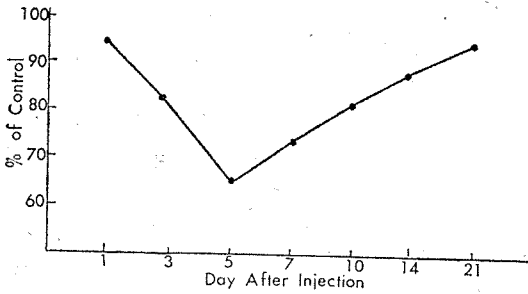


Fig. 1. Percent Change in Body Weight of Rats Following an Injection of 5-Fluorouracil. (50mg/kg)

Sulfite 10gm, Potassium Bromide 0.2gm, Water 200 ml)에 1分, 그리고 2分間 洗滌하고 이를 Kodak Rapid Fixer 固定液에 3分間 固定하고, 5分間 洗滌하였다. 染色은 Toluidine Blue O로 하였다.

自記放射法の 定量分析 및 統計의 處理: 自記放射法에 依하여 還元된 銀粒子的 判讀에는 光學顯微鏡으로 1,000 倍로 찍어서 印畫紙에서 20個의 纖維芽細胞를 選擇하고, 各 細胞의 銀粒子數를 세고, 이를 細胞數로 나누어 平均하였다.

여기서 얻은 數値의 統計的 處理는 算術平均(M), 標準偏差(S.D.), 有意性檢査(P) 및 百分比(%)를 各各 算出하였다.

1) 5-Fluorouracil 에 依한 體重의 變動: 5-Fluorouracil이 體重에 미치는 影響은 第1表 및 第1圖에서 보는 바와같이 注射後 第1日에는 78.3gm, 第3日에는 67.8gm, 第5日에는 54.9gm, 第7日에는 60.4gm, 第10日에는 66.8gm, 第14日에는 72.6gm, 第21日에는 77.5gm이었다. 또 對照群에 對한 百分比를 보면 第1日에는 94.3%, 第3日에는 81.7%, 第5日에는 66.1%, 第7日에는 72.8%, 第10日에는 80.5%, 第14日에는 87.5%, 第21日에는 93.4%이었다.

그리하여 5-Fluorouracil을 注射한後 第1日에는 若干의 體重減少를 가져왔고, 時日의 經過에 따라서 더욱 極甚하여 第5日에는 가장 낮은 數値를 보였고, 其後 부터는 漸次的으로 恢復되기 始作하여 第21日에는 對照群에 對하여 93.4%로서 거의 對照群의 例에 가까웠다.

2) 5-Fluorouracil에 依한 齒髓纖維芽細胞의 影響: 5-Fluorouracil이 切齒齒髓의 纖維芽細胞의 蛋白合成에 미치는 影響은 第2表 및 第2,3圖에서 보는바와 같이 實驗群은 注射後 第1日에 있어서 銀粒子的 平均値는 10.4, 第3日에는 7.6, 第5日에는 5.3, 第7日에는 3.8, 第10日에는 5.0, 第14日에는 6.8, 第21日에는 9.9이었다 對照群은 全期間을 通하여 有意할만한 變化가 없었다.

實驗群 對 對照群의 百分率은 實驗群은 注射後 第1日에는 對照群보다 3.8%(96.2%)減少되고, 第3日에는 29.7%(70.3%), 第5日에는 51.0%(49.0%), 第7日에는 64.9%(35.1%), 第10日에는 53.8%(46.2%), 第14日에는 37.1%(62.9%), 第21日에는 8.4%(91.6%)씩 各各

Table 2. Incorporation of Leucine-<sup>3</sup>H by Fibroblast of Dental Pulp in Rats Receiving 5-Fluorouracil (50mg/kg)

Day	Experiment		Control		% of Control	Probability
	Mean Grain No.	S. D.	Mean Grain No.	S. D.		
1	10.4	0.8	11.2	0.7	96.2	>0.06
3	7.6	0.7	10.4	0.6	70.3	<0.01
5	5.3	0.2	11.5	0.9	49.0	<0.001
7	3.8	0.3	10.0	0.5	35.1	<0.001
10	5.0	0.4	11.9	0.7	46.2	<0.001
14	6.8	0.3	10.1	0.4	62.9	<0.002
21	9.9	0.5	10.6	0.6	91.6	<0.03

減少하였다.

그리하여 注射後 第1日에는 有意할만한 變化가 없었고, 第3日부터 뚜렷한 減少를 보이기 始作하여 第7日이 가장 낮은 數値를 보였고, 其後부터 回復하기 始作하여 第21日에는 거의 對照群의 數値에 接近하였다.

對照群과 實驗群과의 有意性關係를 檢討하여 보면 第1日에는  $P > 0.06$ 으로 有意하지 않았고, 第3日에는  $P < 0.01$ , 第5日, 7日 및 10日에는  $P < 0.001$ , 第14日에는  $P < 0.002$ , 第21日에는  $P < 0.03$ 으로서 모두 有意하였다.

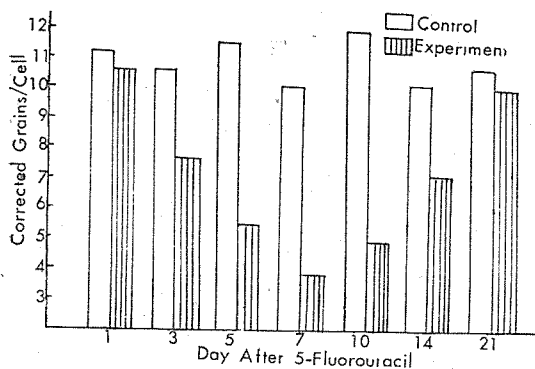


Fig. 2. Quantitative Radioautography of the Effects of 5-Fluorouracil on the Fibroblast of the Pulp of the Rat Incisor.

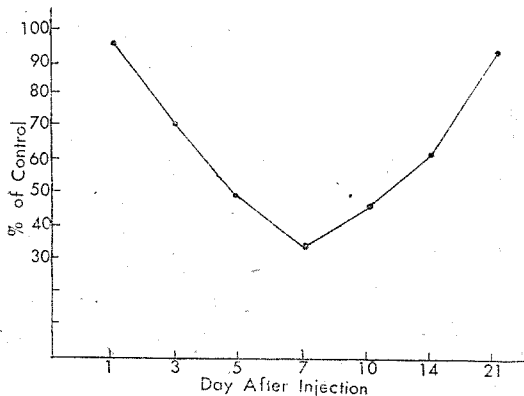


Fig. 3. Percent Change in Protein Synthesis in Rats After Injection of 5-Fluorouracil. (50mg/kg)

#### IV. 總括 및 考察

癌의 原因이나 發生機轉은 아직 確實치 않으나, 여러 方面에 걸친 積極的인 研究結果로 많은 進展이 이루어진 것만은 事實이다. 癌에서는 癌에 特有한 抗原이 發見되

고, 또 免疫學의 缺陷이 있는 疾患에서나 免疫抑制療法을 施行한 人에서 癌의 頻度가 增加됨에 비추어 宿主의 免疫學的 監視가 重要한 要素로 되어 있다.

現在 癌治療의 主要目標은 무엇보다도 早期의 發見과 이에 따른 적절한 治療에 있다고 하겠다. 지금까지 施行하여온 治療法으로는 外科的治療, 放射線療法, 化學療法, 內分泌治療 및 免疫療法 등이 있다. 5-Fluorouracil은 上記한 治療方法中 化學療法에 속하는 것으로서 그동안 皮膚癌等 여러 方面에서 많이 應用되어 오고 있는 抗癌劑의 하나이다.

本 實驗의 結果를 總括하여 보면, 5-Fluorouracil에 의한 體重의 變動은 注射後 第1日부터 體重의 減少를 보이고, 時間의 經過와 더불어 極甚하여 第5日이 가장 낮은 數値를 보이고, 其後부터는 漸次的으로 恢復되어 實驗最終日인 第21日에는 거의 對照群의 數値에 이르렀다. 또 5-Fluorouracil이 齒髓纖維芽細胞의 蛋白質合成에 미치는 影響은 注射後 第1日에는 有意할만한 變化가 없었고, 第3日부터 減少하기 始作하여 第7日이 가장 낮은 數値를 보였고, 其以後부터는 回復되기 始作하여 實驗最終日인 第21日에는 거의 對照群의 數値에 이르렀다.

本 實驗과 直接 關係되거나, 보다 좋은 結果를 뒷받침하여 출수 있는 先人의 業績을 考察하여 보면 韓外2人(1967)<sup>35)</sup>은 Actinomycin D가 繼續成長하는 Rat Incisor에 있어서 齒髓纖維芽細胞에 미치는 影響을 自記放射法 및 電子顯微鏡의 으로 調查하였는데, Leucine-<sup>3</sup>H을 注射한後 第7日이 銀粒子의 數가 제일 적고, 實驗最終日인 第21日에는 거의 正常值에 到達하였다고 하였고, 電子顯微鏡의 所見으로는 역시 Actinomycin D를 注射한後 第7日이 가장 變化가 많았고, 特히 粗面小胞體, 絲粒體, Golgi裝置, Polyri-bosome의 構造에 影響을 주었다고 하였다.

金外1人(1969)<sup>41)</sup>은 酸素缺乏時에 있어서 下顎骨下緣의 皮下結合組織의 纖維芽細胞에 미치는 影響을 自記放射法으로 調查하였는데 酸素缺乏後 15分에 있어서 銀粒子의 數가 제일 적었다고 하였고, Anderson(1967)<sup>39)</sup>은 齒髓에 있어서 蛋白質質의 代謝變化를 評價하였는데 Proline-<sup>3</sup>H을 注射한後 24時間에는 多數의 銀粒子가 出現하였고, 59日이 經過한 後에는 거의 銀粒子를 發見할수가 없었다고 하였다.

Straffon外1人(1970)<sup>71)</sup>은 Polyvinyl Alcohol Sponge를 Hamster의 背肩岬部의 皮下에 심고, 30日이지난後, Formocresol을  $\frac{1}{5}$ ,  $\frac{1}{25}$ ,  $\frac{1}{125}$ 로 稀釋하여 이를 Sponge Implant에 注射하고, 結合組織細胞의 RNA 合成에 미치는 影響을 調查하였는데, Formocresol을  $\frac{1}{5}$ 로 稀釋

한 예가 纖維芽細胞의 RNA合成을 적게 抑制하여 Pulpotomy에 가장 効果의이라 하였고,

Smith外1人(1968)<sup>68</sup>은 無酸素症이 新生 Hamster의 結合組織의 纖維芽細胞의 膠原合成에 미치는 影響을 調査하였는데 酸素缺乏後 24時間이 가장 抑制의 現象을 나타냈다고 하였고,

Avery外2人(1966)<sup>69</sup>은 Guinea Pig의 實驗的 壞血病時에 切齒齒髓에 미치는 影響을 電子顯微鏡으로 調査하였는데, 齒髓의 纖維芽細胞가 작고, 細胞內 諸 小器管이 數的으로 減少되고, 小胞體가 小數이고, 小胞體에 붙어있는 Ribosome이 적다고 하였다.

DeDeus外1人(1967)<sup>70</sup>은 Hamster의 切齒에서 齒髓를 露出시켜, 여기에 Cortisone-<sup>3</sup>H을 添附하여, 齒髓의 變化를 自記放射法으로 研究하였는데 Radiocortisone을 注射한後 10分에 있어서 齒髓內에 多數의 銀粒子가 出現하였다고 하였고,

Grewe外1人(1968)<sup>71</sup>은 白鼠에 있어서 齒牙가 出隲하여 機能的인 咬合을 할때에 齒髓細胞의 核酸合成關係를 調査하였는데, 機能的인 咬合時에 Thymidine-<sup>3</sup>H의 Labeled cell이 減少된다고 하였고,

Han外1人(1965)<sup>72</sup>은 Guinea Pig의 Incisor Pulp에 關하여 電子顯微鏡의 으로 調査하였는데, 直徑이 60A°인

Intracellular fibrils를 볼수가 있다고 하였고,

Avery外1人(1961)<sup>80</sup>은 Hamster의 白齒에 있어서 齒髓의 超微細構造를 調査하였는데, 다른動物과는 달리 小胞體가 적고, 糸粒體의 Cristae도 적다고 하였고,

韓(1965)<sup>33</sup>은 第4圖에서 보는 바와 같이 纖維芽細胞에 있어 蛋白合成과 合成된 蛋白이 細胞밖으로 分泌되는 過程을 圖解하여 說明하였고,

Ross(1969)<sup>59</sup>은 傷處의 治癒時에 있어서 結合組織의 Healing Wound's matrix의 膠原合成과 Protein Polysaccharides의 合成에 關하여 自記放射法 및 電子顯微鏡의 으로 研究하였고, Guinea Pig에 있어서 Labeled Amino Acid를 倂後 1時間에는 銀粒子가 纖維芽細胞內에 局限되나, 4時間에는 銀粒子가 細胞內를 빠져서 細胞間質에 많이 出現한다고 하였고, 細胞內에서 合成된 蛋白이 細胞밖으로 分泌되는 過程에는 이미 緒論에서 말한바와 같이 두가지 길이 있다고 하였다.

韓(1973)<sup>34</sup>은 纖維芽細胞는 結合組織損傷 및 創傷治癒時에 活動的이고, 活動的인 狀態에서는 細胞全體가 肥大하고 核과 核小體는 뚜렷해지며, Cytoplasm Basophilia가 增加한다고 하였고,

Ross(1965)<sup>58</sup>은 創傷의 治癒時에 纖維芽細胞가 損傷部位로 移動하여 膠原을 合成한다고 하였고,

Orlowski(1974)<sup>52</sup>는 牛 및 豚의 齒髓에 있어서 膠原, 糖蛋白 및 酸性粘液多糖類의 含有量에 關하여 生化學的으로 調査하였는데, 膠原은 小量이고, 糖蛋白과 酸性粘液多糖類가 高濃度이라 하였다.

Sicher(1966)<sup>67</sup>는 齒髓는 Specialized Loose Connective Tissue로 되고, 細胞는 大部分이 纖維芽細胞가 있고, 細胞間質은 纖維와 Ground Substance로 構成된다고 하였고,

Permar(1963)<sup>54</sup>는 Old Pulp Cell은 纖維芽細胞의 數가 減少되고, 大部分 纖維로 되어 있다고 하였고. Seltzer外1人(1965)<sup>65</sup>은 未分化間胚葉細胞는 組織의 損傷時에 大喰細胞, 纖維芽細胞로 되고, 主로 血管壁가 가까이 存在한다고 하였고, 齒髓의 Ground Substance는 糖蛋白과 關聯이 있는 蛋白과 酸性粘液多糖類로 構成되어 있다고 하였다.

以上 先人의 業績을 보아, 찾아본 範圍內에서는 5-Fluorouracil이 結合組織細胞 特히 齒髓의 纖維芽細胞의 蛋白合成에 어떠한 影響을 미치는가를 研究한것은 없었고, 또 齒髓의 纖維芽細胞도 다른 部位의 結合組織의 纖維芽細胞와 마찬가지로 蛋白을 合成하고 合成된 蛋白을 細胞밖으로 分泌하므로, 齒醫學領域은 勿論 他分野에도 應用할 수 있으리라 생각된다.

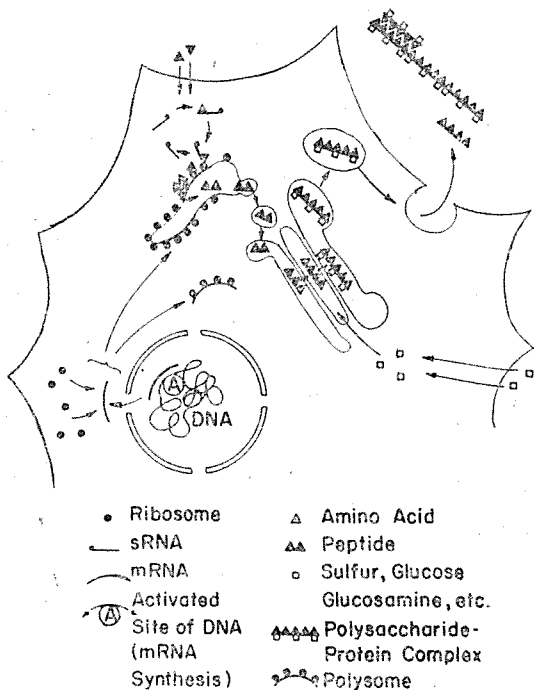


Fig. 4. Diagram Illustrating the Intracellular Synthetic Steps of Intracellular Substances Produced by Fibroblasts.

## V. 結 論

5-Fluorouracil을 白鼠에 注射하여 白鼠切齒齒髓의 纖維芽細胞의 蛋白合成에 어떠한 影響을 미치는가를 調査한 것으로서 其 結果는 다음과 같다.

1. 5-Fluorouracil이 體重에 미치는 影響은 注射後 第1日부터 體重減少를 가져오고, 時日의 經過와 더불어 甚하여져서 第5日이 가장 낮은 數值를 보이고 其後부터는 恢復되어 實驗最終日인 第21日에는 正常群의 數值에 가까워 졌다.

2. 5-Fluorouracil이 齒髓의 纖維芽細胞의 蛋白合成에 미치는 影響은 注射後 곧 蛋白合成의 抑制를 보이고 第7日이 가장 極甚하고, 其後부터는 恢復되기 始作하여 實驗最終日인 第21日에는 正常值에 接近하였다.

3. 本實驗의 結果는 5-Fluorouracil을 齒醫學領域과 關係되는 結合組織에 應用한것이 意義가 있고, 또 齒髓의 纖維芽細胞는 다른 結合組織細胞와 같이 蛋白을 合成하고, 合成된 蛋白을 細胞外로 分泌하는 點으로 보아 他分野의 研究時에도 參考가 될것으로 생각된다.

(指導하여주신 恩師 金用瑄教授任게 感謝드리오며, 아울러 器具와 技術의面을 도와주신 金明國副教授에도 深謝한다.)

## REFERENCES ;

- 1) Ahman, D.L., Bisel, H.F. and Hahn, R.G. : An Evaluation of 5-Fluorouracil in the Treatment of Advanced Breast Cancer. Mayo Clin. Proc. 42 : 193—199, 1967.
- 2) Amos, H. : Effect of Actinomycin D and chloramphenicol on Protein Synthesis in Chick Fibroblasts. Biochem. Biophys. Acta 80 : 269—278, 1963.
- 3) Anderson, A.W. : The Protein Matrixes of the Teeth and the Periodontium in Hamsters: A Tritiated Proline Study. J. Dent. Res. 46 : 67—78, 1967.
- 4) Anderson, A.A. : The Protein Matrixes of the Teeth and Periodontium in Hamsters: A Tritiated Proline Study. J. Dent. Res. 46 : 67—78, 1967.
- 5) Ansfield, F.J., Schroeder, J.M. & Curreri, J.M. : Five Years Clinical Experience with 5-fluorouracil. J. A.M.A. 181 : 295—299, 1962.
- 6) Avery, J.K., Han, S.S. and Lee, Y.I. : Modifications of the Fine Structure of the Incisor Pulp of the Guinea Pig during Experimental Scurvy. J. Dent. Res. 45 : 440—448, 1966.
- 7) Avery, J.K. : The Pulp in Development and Aging. 1—17, The University of Michigan, Kellogg Foundation Institute, 1965.
- 8) Avery, J.K. and Han, S.S. : The Formation of Collagen Fibrils in the Dental Pulp. J. Dent. Res. 40 : 1248—1261, 1961.
- 9) Bloom, W. and Fawcett, D.W. : A Textbook of Histology. 9th Edit. : 141—149, 529—543, 1968.
- 10) Boucek, R.J. and Noble, M.L. : Connective Tissue: A Technic for Its Isolation and Study. Arch. Path. 59 : 553—558, 1955.
- 11) Brennan, M.T. and Vaitkevicius, V.K. : 5-Fluorouracil in Clinical Cancer. Cancer. Chemother. Rep. 6 : 8—11, 1960.
- 12) Brewer, D.B. : The Fibroblast. Proc. R. Soc. Med. 60 : 778—781, 1967.
- 13) Burke, J.H. : The Fibroblast and Its Role in Collagen Formation. Master Thesis in The University of Michigan, 1969.
- 14) Carneiro, J. and Favro de Moraes, F. : Radioautographic Visualization of Collagen Metabolism in the Periodontal Tissues of the Mouse. Archs. Oral Biol. 10 : 833—845, 1965.
- 15) Chapman, J.A. : Fibroblasts and Collagen. Brit. Med. Bull. 18 : 233—239, 1962.
- 16) Cornell, C.N., G.N., Cahow, C.E. & Frey, C. : Clinical Experience with 5-Fluorouracil in Treatment of Malignant Disease. Cancer Chemother. Rep. 9 : 23—30, 1960.
- 17) Crumley, P.J. : Collagen Formation in the Normal and Stressed Periodontium. Periodontics 2 : 53—61, 1964.
- 18) Curreri, A.R., Ansfield, F.J. & McIver, C. : Clinical Studies with 5-Fluorouracil. Cancer Res. 18 : 478—484, 1958.
- 19) DeDeus, Q.D. and Han, S.S. : The Fate of <sup>3</sup>H-Cortisone Applied on the Exposed Dental Pulp. Oral Surg., Oral Med. & Oral Path. 24 : 404

- 418, 1967.
- 20) Deporter, D.A. and Ten Cate, A.R.: Fine Structural Localization of Acid and Alkaline Phosphatase in Collagen-Containing Vesicles of Fibroblasts. *J. Anat. (London)* 114: 457—461, 1973.
  - 21) Difiore, M.S.H.: *Atlas of Human Histology*. 3rd Edit.: 31—35, Lea & Febiger, 1970.
  - 22) Dillaha, C.J., Jansen, G.T., Honeycutt, W. & Bradford, A.C.: Selective Cytotoxic Effect of Topical 5-Fluorouracil. *Arch. Derm.* 88: 247—256, 1963.
  - 23) Ferguson, D. and Humphrey, E.: Preliminary Clinical Notes of 5-Fluorouracil. *Cancer Chemother. Rep.* 8: 153—154, 1960.
  - 24) Fisher, A.K. and Schwabe, C.: Respiration and Glycolysis in Bovine Dental Pulp. *J. Dent. Res.* 48: 439—443, 1939.
  - 25) Fisher, A.K. and Schwabe, C.: The Endogenous Respiratory Quotient of Bovine Dental Pulp. *J. Dent. Res.* 40: 346—351, 1961.
  - 26) Fisher, A.K. and Walters, V.E.: Anaerobic Glycolysis in Bovine Dental Pulp. *J. Dent. Res.* 47: 717—719, 1968.
  - 27) Giese, A.C.: *Cell Physiology*. 3rd Edit.: 464—470, Saunders, 1968.
  - 28) Gold, G.L., Hall, T.C. & Shnider, B.L.: Clinical Study of 5-Fluorouracil. *Cancer Res.* 19: 935—939, 1959.
  - 29) Grant, D.A., Stern, I.B. and Everett, F.G.: *Orban's Periodontics*. 4th Edit.: 51—59, Mosby, 1972.
  - 30) Greenwald, E.S.: *Cancer Chemotherapy*. 2nd Edit.: 198—212, Medical Examination Publishing Company Inc., 1973.
  - 31) Grewe, J.M. and Felts, W.J.L.: Autoradiographic Investigation of Tritiated Thymidine Incorporation into Replanted and Transplanted Mouse Mandibular Incisors. *J. Dent. Res.* 47: 108—114, 1968.
  - 32) Grewe, J.M. and Felts, W.J.L.: Influence of Occlusion on the Cellular Activity of Mouse Mandibular Incisors. *J. Dent. Res.* 47: 65—69, 1968.
  - 33) Han, S.S.: The Fine Structure of the Dental Pulp under Normal and Pathological Conditions. 1—51, Office of Research Administration, Ann Arbor, Michigan, 1965.
  - 34) Han, S.S.: Cells (Connective Tissue). 6—17, School of Dentistry, The University of Michigan, 1973.
  - 35) Han, S.S., Avery, J.K. and Bang, J.S.: The Effect of Actinomycin D on the Fibroblast of the Pulp of the Rat Incisor. A Study by Quantitative Radioautography and Electron Microscopy. *Archs. Oral Biol.* 12: 503—512, 1967.
  - 36) Han, S.S. and Avery, J.K.: The Fine Structure of Intercellular Substances and Rounded Cells in the Incisor Pulp of the Guinea Pig. *Anat. Rec.* 151: 41—58, 1965.
  - 37) Han, S.S., Avery, J.K. and Hale, L.E.: The Fine Structure of Differentiating Fibroblasts in the Incisor Pulp of the Guinea Pig. *Anat. Rec.* 153: 187—210, 1965.
  - 38) Han, S.S. and Avery, J.K.: The Ultrastructure of Capillaries and Arterioles of the Hamster Dental Pulp. *Anat. Rec.* 145: 549—572, 1963.
  - 39) Jacobs, E.M., Luge, J.K. & Wood, B.A.: Treatment of Cancer with Weekly Intravenous 5-Fluorouracil. *Cancer* 22: 1233—1238, 1968.
  - 40) Kennedy, B.J. and Theologides, A.: The Role of 5-Fluorouracil in Malignant Disease. *Ann. Intern. Med.* 55: 719—730, 1961.
  - 41) Kim, J.H. and Han, S.S.: Studies on Hypoxia. V. Effects of Anoxia on Developing Connective Tissue Cells in Rats. *Anat. Rec.* 165: 531—542, 1969.
  - 42) Leeson, T.S. and Leeson, C.R.: *Histology*. 2nd Edit.: 93—95, 279—282, Saunders, 1970.
  - 43) Loewy, A.G. and Siokevitz, P.: *Cell Structure and Function*. 2nd Edit.: 33—48, Holt, Rinehart and Winston, Inc., 1969.
  - 44) Loos, P.J. and Han, S.S.: An Enzyme Histochemical Study of the Effect of Various Concentrations of Formocresol on Connective Tissues. *Oral Surg., Oral Med., Oral Path.* 31: 571—585, 1971.
  - 45) Luft, J.H.: Improvements in Epoxy Resin Embedding Methods. *J. Biophys. Biochem. Cytol.* 9: 409—414, 1961.
  - 46) Manley, E.B., Brain, E.B. and Marsland,



- E. A. : An Atlas of Dental Histology. : 20—21, Blackwell Scientific Publications, 1955.
- 47) Matthews, M.B. : Biophysical Aspects of Acid Mucopolysaccharides Relevant to Connective Tissue Structure and Function. In: Connective Tissue: 304—329, Williams & Wilkins Co., 1967.
  - 48) Matthews, J.L., Dorman, H.L. and Bishop, J.G. : Fine Structure of the Dental Pulp. J. Dent. Res. 38 : 940—948, 1959.
  - 49) Mitsis, P.J. : The Effect of Metacresylacetate and Camphorated Chlorophenol on the Dental Pulp. Oral Surg., Oral Med., and Oral Path. 26 : 848—855, 1968.
  - 50) Movat, H.Z. and Fernando, N.V.P. : The Fine Structure of Connective Tissue. I. The Fibroblast. Exp. and Mol. Path. 1: 509—534, 1962.
  - 51) Nadler, S.H. and Moore, G.E. : A Clinical Study of 5-Fluorouracil. Surg. Gynec. Obstet. 127 : 121, 1968.
  - 52) Orłowski, W.A. : Analysis of Collagen, Glycoproteins and Acid Mucopolysaccharides in the Bovine and Porcine Dental Pulp. Archs. Oral Biol. 19 : 225—258, 1974.
  - 53) Pejrone, C.A. : Anaerobic Glycolysis in Bovine Dental Pulp. J. Dent. Res. 44 : 521—525, 1965.
  - 54) Permar, D. : A Manual of Oral Embryology and Microscopic Anatomy. 3rd Edit. : 68 : 73, Lea & Febiger, 1963.
  - 55) Pincus, P. : Some Physiological Data on the Human Dental Pulp. Brit. Dent. J. 89 : 138—143, 1950.
  - 56) Poster, K.R. and Pappas, C.D. : Collagen Formation by Fibroblasts of the Chick Embryo Dermis. J. Biophys. and Biochem. Cytol. 5 : 153—165, 1959.
  - 57) Provenza, D.V. : Oral Histology. 253 : 271, Lippincott, 1964.
  - 58) Ross, R. : Synthesis and Secretion of Collagen by Fibroblasts in Healing Wounds. Symposia of the International Society for Cell Biology. Vol. 4 : 273—292, Academic Press, 1965.
  - 59) Ross, R. : Wound Healing. Scientific American 220 : 40—55, 1969.
  - 60) Ross, R. and Benditt, E.P. : Wound Healing and Collagen Formation. IV. Patterns of Fibroblasts in Scurvy. J. Cell Biol. 22 : 365—371, 1964.
  - 61) Ross, R. and Benditt, E.P. : Wound Healing and Collagen Formation. III. Quantitative Radioautographic Study of the Utilization of Proline—<sup>3</sup>H in Wounds from Normal and Scorvic Guinea Pigs. J. Cell Biol. 15 : 99—108, 1962.
  - 62) Schour, I. : Oral Histology and Embryology. 8th Edit. : 142—156, Lea & Febiger, 1960.
  - 63) Seelig, A. : Dentin and Pulp. New York State Dent. J. 31 : 54—69, 1965.
  - 64) Seifter, E., Manner, G., Crowley, L.V. and Levenson, S.M. : Enhancement by Cultured Fibroblast of Reparative Collagen Synthesis in Rat. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 146 : 8—10, 1974.
  - 65) Seltzer, S. and Bender, I.B. : The Dental Pulp. : 51—64, Lippincott, 1965.
  - 66) Shapiro, M. : The Scientific Bases of Dentistry. 83—86, Saunders, 1966.
  - 67) Sicher, H. : Orban's Oral Histology and Embryology. 6th Edit. : 131 : 154, Mosby, 1966.
  - 68) Smith, D.M. and Han, S.S. : A Quantitative Radioautographic Study of the Effect of Anoxic Stress on <sup>3</sup>H- Proline in Incorporation by Oral Connective Tissue Cells of the Neonatal Hamster. J. Dent. Res. 47 : 244—251, 1968.
  - 69) Stanley, H. and Ranney, D. : Age Changes in the Human Dental Pulp. 1: The Quantity of Collagen. Oral Surg. 15 : 1399—1404, 1962.
  - 70) Stallard, R.E. : The Utilizaion of Proline—<sup>3</sup>H by the Connective Tissue Elements of the Periodontium. Periodontics 1 : 185—188, 1963.
  - 71) Straffon, L.H. and Han, S.S. : Effects of Varying Concentrations of Formocresol on RNA Synthesis of Connective Tissue in Sponge Implants. Oral Surg. Oral Med. & Oral Path. 29 : 915—925, 1970.
  - 72) Straffon, L.H. and Han, S.S. : The Effect of Formocresol on Hamster Connective Tissue Cells. Histologic and Quantitative Radioautographic Study with Proline—<sup>3</sup>H. Arch. Oral Biol. 13 : 271—288, 1968.

- 73) Szakal, A.K. and Han, S.S. : Histochemical Demonstrations of Actinomycin Induced Changes of Certain Oxidative and Hydrolytic Enzymes of Rat Incisor Pulp. Arch. Oral Biol. 12 : 265—274, 1967.
- 74) Tencate, A.R. and Deporter, D.A. : The Role of the Fibroblast in Collagen Turnover in the Functioning Periodontal Ligament of the Mouse. Archs. Oral Biol. 19 : 339—340, 1974.
- 75) Tencate, A.R. : Morphological Studies of Fibrocytes in Connective Tissue Undergoing Rapid Remodelling. J. Anat. (London) 112 : 401—414, 1972.
- 76) Woessner, J.F. and Boucek, R.J. : Enzyme Activity of Rat Connective Tissue Obtained From Subcutaneously Implanted Polyvinyl Sponge. J. Biol. Chem. 234 : 3296—3300, 1959.
- 77) Yandley, J.H., Heaton, M.W., Gains, L.M., and Shulman, L.E. : Collagen Formation by Fibroblasts. Johns Hopkins Hosp. Bull. 106 : 381—393, 1960.
- 78) Zerlotti, E. : Histochemical Study of the Connective Tissue of the Dental Pulp. Archs. Oral Biol. 9 : 149—162, 1964.
- 79) Zubrod, C.G. : Effects of 5-Fluorouracil and 5-Fluorodeoxyuridine on Gastrointestinal Cancer. J.A.M.A. 178 : 832—834, 1961.
- 80) 妹尾左知丸, 高木康敬 : 新細胞學 · 695—696, 朝倉書店, 1973.
- 81) 金永昌 : 口腔組織學 및 發生學 : 41—46, 1974.
- 82) 정일천 : 조직학 · 개경 제 5 권 · : 73—82, 최신행사, 1972.
- 83) 李允相 : 數種齒髓藥劑가 齒髓 Alkaline Phosphatase의 活性에 미치는 影響에 關한 研究 · 대한치과의사협회지 12 : 497—504, 1974.

#### —EXPLANATION OF FIGURES—

- Fig. 1.** Autoradiograph of a developing dental pulp of the control rat sacrificed at 7 days. Notice the heavy labeling of a developing dental pulp cells. (x 1,000)
- Fig. 2.** Autoradiographic reaction obtained 3 days after in jection of 5-fluorouracil. Notice the few grains compared to control rat sacrificed at 7 days. (x 1,000)
- Fig. 3.** Autoradiograph of a developing dental pulp at 7 days after 5-fluorouracil. Only a few grains are localized over individual fibroblasts. (x 1,000)
- Fig. 4.** Experimental animal sacrificed at 10 days. Compared to figure 3 there is a notable increase in the intracellular grain. (x 1,000)
- Fig. 5.** Experimental animal sacrificed at 14 days. (x 1,000)
- Fig. 6.** Radioautograph of a developing dental pulp at 21 days after 5-fluorouracil in rats injected with  $3\mu\text{c/g}$  body weight of leucine- $^3\text{H}$ . Notice the distinct increase in the amount of labeling of pulp cell. (x 1,000)

写真附图

