Cobalt-60이 發育齒胚組織에 미치는 影響에 關한 實驗的 硏究

서울大學校 大學院 齒醫學科 齒科放射線學 專攻
(指導 劉 東 洙 副敎授)

李 基 植

——目 次——

Ⅰ. 緖 言
Ⅱ. 實驗材料 및 方法
Ⅲ. 實驗成績
Ⅳ. 考 按
Ⅴ. 結 言
參考文獻
英文抄錄
寫眞附圖

Ⅰ. 緖 言

醫學的診斷 및 癌治療分野에서 極히 重要한 位置를 차지하고 있는 放射線은 細胞를 構成하고 있는 分子 또는 原子에 物理學的으로 作用하고, 이어서 이러한 物理學的作用에 依하여 生産된 非正常的인 代謝産物이 二次的으로 作用하여 生物體는 그 構造가 損傷되고 機能障害 및 平衡攪亂等이 나타나는 것으로 알려져 있다[1].

이와같은 放射線의 照射가 生體의 口腔領域에 미치는 生物學的인 效果에 關하여 많은 硏究가 施行되어 왔다 即 Leist[17]가 白鼠頭에 放射線을 局所照射하여 造象牙細胞의 退行性變化와 象牙質의 形成障害等이 일어남을 觀察하고, 齒牙를 構成하는 胚胚葉組織이 放射線에 敏感하게 反應하고, 琺瑯質 및 造琺瑯細胞等 上皮組織에는 큰 變化가 일어나지 않는다고 報告한 以來 Smith[27,28], Inoue, et al[13], Murai[23], Dale[10], Weinreb, et al[30], Medak et al[21], Burstone, et al[7], Burstone[8], Bruce[6], English and Tullis[12], Kalnis[15], Adachi et al[4], Louis et al[18], Murai, et al[24], Kikuchi[16], Adachi, et al[5], Meyer et al[22] 및 朴[2] 等은 白鼠, 甘日鼠, 돼지, 고양이, 개, 몰모트등에 放射線을 여러가지 方法에 依하여 局所照射 또는 全身照射하였을 때 造象牙細胞의 變性 및 骨樣象牙質形成等의 象牙質形成不全, 象牙質과 琺瑯質의 形成遲延, 上皮鞘 및 造琺瑯細胞의 變性, 琺瑯質形成不全, 齒髓의 水腫, 齒牙의 萌出遲延等이 나타남을 報告하였다. 그러나 이러한 業績들은 大部分이 出生後에 放射線을 照射하여 觀察한 것들이어서 胎生發育期齒胚組織에 미치는 影響에 關해 追究된바는 稀少한 것 같다.

電離放射線은 一般的으로 迅速히 分裂하고 있는 細胞에 影響을 미치는 것으로 알려져 있고, 胎兒에 100R 乃至 200R程度를 照射한 後에는 骨格의 畸型이 惹起된다. 이때 口腔領域에서는 兎唇 口蓋破裂, 顎間骨의 前齒部位癒合乃至 消失과 前齒缺損等의 症狀이 나타난다고 한다.

이에 著者는 라듐보다 半感期가 짧고 定安한 線療法으로서 라듐을 代用으로 使用되는 ^{60}Co를 姙娠中인 白鼠에 局所照射하여 齒胚組織의 發育에 미치는 影響을 組織學的 및 組織化學的으로 觀察한바 있어 이에 報告하는 바이다.

Ⅱ. 實驗材料 및 方法

實驗對象은 受胎白鼠 9마리가 이에 試供되었다. 受胎의 判定에는, 交尾後 腟栓의 有無로서 이루어졌다.

^{60}Co 照射條件은 深部治療裝置—Picker C-3000型에 線源 3,000 Ci, FOD. 50cm., Focus size 5cm×5cm, 을 姙娠 10日째되는 날에 左側下腹部 子宮部位에 100R (45sec), 200R(90 sec) 및 300R(135 sec)을 1回에 限하여 局部照射하였고, 照射받은 部位의 反對側(右側)의 胎仔는 對照群으로 삼았다.

胎兒는 姙娠後 18日이 되는날에 母體로부터 摘出되었다. 分娩直前에 摘出된 白鼠胎兒는 곧이어 斷頭되고, 左右下顎骨體를 切取, 各己 10% 中性 formalin과 Carnoy

液에 固定, 通法에 따라 下記 諸染色을 實施하였다.

組織化學的 方法으로는 PAS 및 colloidal鐵反應과 aldehyde fuchsin, α-amino酸 및 -SH基, 核酸(methylgreen pyronin)을 爲한 染色法을 實施하고, 이들에서의 反應結果는 H-E染色을 한것과 서로 對照檢鏡되었다.

Ⅲ. 實 驗 成 績

1. 對照群：唇面의 齒根端側 硬組織形成部位에 長圓柱形의 造琺瑯細胞가 薄層의 琺瑯質上에 一列로 緻密하게 配列되어 있었으며 楕圓形의 核은 近心側에 偏在하고 있었다. 또한 齒髓에서는 長圓柱形의 造象牙細胞가 象牙前質下層에 거의 一列로 配列되어 있었으며, 象牙前質上部에는 石灰化가 進行中인 象牙質과 成熟象牙質이 두껍게 形成되어 있었고 象牙細管을 認定할 수 있었다. 舌側에서는 上皮鞘下部에 薄層의 象牙質이 平坦하게 形成되어 있었고, 그內側에는 長圓柱型의 造象牙細胞가 配列되어 있었다. PAS反應所見에서 造琺瑯細胞는 輕度의 陽性反應을 보여 淡紫色調를 띄었으며, 琺瑯質, 造象牙細胞, 象牙前質 및 成熟象牙質은 中等度로 顯色되었고, 石灰化가 進行中인 象牙質에서는 强度의 反應을 보여 深紫色調로 呈染되었다.

colloidal iron染色所見에서는 造琺瑯細胞 및 琺瑯質은 淡青色을 띄었으며, 象牙質은 中等度의 青色이었으나, 象牙前質 및 이와 相接한 造象牙細胞는 輕度의 反應을 보여 淡青色이 되었다. 齒髓의 細胞間質에는 濃青染되는 物質이 充滿되어 있었다.

aldehyde fuchsin染色에서 造琺瑯細胞, 象牙前質 및 造象牙細胞는 極히 微弱한 淡紫色調로 呈染되었고, 琺瑯質 및 石灰化가 進行中에 있는 象牙質은 中等度로 顯色되었다.

α-amino酸反應에서 造琺瑯細胞 및 造象牙細胞는 中等度의 赤紫色調로 好染되었으나, 琺瑯質 및 象牙質은 淡赤紫色으로 그 反應이 微弱하였다.

-SH基反應에서 造琺瑯細胞 및 造象牙細胞는 淡青色으로 輕度의 反應을 보였으나, 象牙質은 中等度의 青色을 띄었으며, 琺瑯質은 深青色으로 好染되었다.

methylgreen pyronin染色에서 造琺瑯細胞 및 造象牙細胞의 核上部 細胞質內에는 赤色으로 濃染되는 顆粒像의 物質이 充滿되어 있었고 核은 青綠色으로 顯色되어 있다.

2. 100R照射群의 所見：組織學的 所見은 正常對照群과 큰 差異를 發見할 수 없었다.

또한 PAS反應, colloidal iron染色, α-amino酸反應 및 methylgreen pyronin染色等에서도 正常對照群과 別로 差異를 認定할 수 없었다.

그러나 象牙質의 -SH基 反應은 淡青色으로 顯色되었으며, 象牙質 및 琺瑯質의 aldehyde fuchsin染色性은 中等度의 紫色調로 보였다.

3. 200R 照射群의 所見：琺瑯質形成不全이 뚜렷하였으며, 造琺瑯細胞層에서 水腫을 볼 수 있었다. 어떤 造琺瑯細胞에서는 細胞質內에 小胞를 含有하고 있었다. 象牙質은 凹凸像으로 彎曲像을 보였으며, 特히 舌側에서 顯著하였다. 齒囊 및 齒髓의 血管들은 充血되어 있었으나, 出血像은 보이지 않았다. 齒髓內에서 齒髓細胞가 埋入되어 있고 染色性이 骨과 極히 類似한 骨樣組織이 散在하였다. PAS反應所見에서 造象牙細胞의 反應이 正常對照群에 比하여 若干 低下되어 보였고, 骨樣象牙質은 中等度의 紫色調로 顯色되었다. colloidal iron反應에서는 造琺瑯細胞, 造象牙細胞, 象牙質 및 象牙前質은 輕度의 淡青色을 띄우나, 細胞間質은 濃青染되었으며, 骨樣象牙質은 거의 陰性으로 보였다. aldehyde fuchsin染色에서는 造琺瑯細胞 및 造象牙細胞가 거의 陰性으로 보였고, 象牙質 및 齒髓間質은 中等度의 紫色으로 呈染되었으며, 骨樣象牙質은 淡紫色調로 顯色되었다.

α-amino酸反應, -SH基反應 및 methylgreen pyronin染色에서는 100R照射群과 큰 차이를 發見할 수 없었고 骨樣象牙質은 α-amino酸反應에서 淡赤色調로 染色되었다.

4. 300R照射群의 所見：象牙質은 심한 彎曲像을 보였으며, 特히 舌側이 더욱 심하였고 象牙前質의 形成이 微弱하였으며 琺瑯質形成不全이 뚜렷하였다. 어떤 造琺瑯細胞는 萎縮되어 있었고, 小胞를 含有한 것도 있었으며, 造琺瑯細胞사이에 囊胞가 形成된 部位도 出現하였다. 어떤 造象牙細胞는 短小하여지고 核은 濃縮되었으며, 壞死된 細胞도 出現하였고, 細胞配列이 極히 不規則하여졌다. 造象牙細胞사이 및 齒髓細胞사이에 많은 囊胞가 出現하여 網狀萎縮像을 보였으며, 많은 血管壁들이 심히 擴張되고 變性되어 있었다. 齒髓의 여기저기에서 심한 骨樣組織의 形成을 볼 수 있었고, 齒囊에서는 심한 血管擴張을 볼 수 있었다. PAS反應에서 造琺瑯細胞는 거의 陰性으로 보였고, 變性된 造象牙細胞는 그 反應度가 極히 低下되었다. 象牙質은 瀰漫性으로 中等度의 反應을 보였으며, 骨樣象牙質은 中等度의 紫色調로 顯色되었다. colloidal iron反應 및 aldehyde

fuchsin染色所見은 200R照射群과 大同小異하였다. 變性된 造象牙細胞 및 造琺瑯細胞는 α-amino酸反應에서 淡赤紫色으로 顯色되며, -SH基反應에서도 거의 陰性으로 보였다. 또한 methylgreen pyronin染色所見에서는 變性된 造琺瑯細胞 및 造象牙細胞의 染色性이 若干 減少되는 傾向이 있다.

Ⅳ. 考 按

放射線에 依해 生體가 받어지는 障害에는 여러因子가 介在되겠으나 一般的으로 分裂增殖機能이 活潑한 組織細胞일 수록 感受性이 높아짐은 널리 알려진 事實이라 하겠으며[11)26)], 이는 또한 旺盛한 物質代謝를 營爲하는 細胞에서는 酸素供給率이 增加하게 될 것이므로 組織에 酸素濃度가 높을수록 더욱 强한 感受性이 作用될 것으로 본다.

그러나 齒胚組織은 間胚葉性組織에서 分化하여 主로 象牙基質形成에 關與하는 齒乳頭에서는 血管이 比較的 豊富하게 分布되어 酸素供給을 圓滑히 할 수 있는 組織이라 하겠으나, 外胚葉性組織에서 分化되고 琺瑯基質形成에 關與하는 琺瑯器에서는 血管系가 存在하지 않는 組織이라 하겠다.

Sasaki[25)]는 放射線을 大量照射(1,200R)後 24時間이 經過한 造琺瑯 및 造象牙細胞에서의 分裂週期를 觀察한 바 DNA合成을 하고 있는 造象牙細胞는 거의 消失하고 있는 反面에 造琺瑯細胞에서는 約 20%가량이 DNA合成能力을 가지고 있음을 알려주고 있는데[19,26,30)] 이와같은 所見은 造琺瑯細胞에서 보다 造象牙細胞가 放射線의 感受性이 높다는 事實을 立證하는 것이라 하겠고, 또한 分化 增殖의 能力을 가진 細胞는 放射線의 感受性이 높으며, 아울러 放射線에 依한 障害가 容易하게 惹起됨을 뜻하는 것이라 하겠다.[26)] 그리고 그形成障害程度는 放射線의 照射量보다도 그 組織器官에서의 吸收線量에도 左右되는 것이라 하겠다.

한편 Callas and Walker[9)]에 依하면 分化途上에있는 發育 胚組織에다 放射線 (300R)을 照射하였을 경우, 그 胚組織으로 부터의 器官分化는 正常的인 方向으로 進行되었음을보고 分化와 成長面에서의 放射線障害는 서로 달리한다고 하였다. 이에 著者는 本實驗에서와같이 姙娠白鼠에다 100R~300R에 이르는 放射線을 仔白鼠의 齒胚形成期에 照射하고, 特히 琺瑯및 象牙基質形成에 關連된 所見을 追究한바, 一般的으로 姙娠 10日째 되는 白鼠胎兒는 齒胚및 顎骨體의 形成期에 該當되며[11)], 이로부터 分娩直前에 이르는 期間에는, 本實驗의 對照群에서의 所見과 같이 切齒齒胚組織에서는 活潑한 基質形成에 關與하는 齒胚組織이라 하겠다. 이와같은 發育齒胚組織에 放射線의 影響이 作用되었을時, 齒質形成에 미친바를 總括하여 보건데, 100R의 경우에선 正常對照群의 所見과 大差없이 造琺瑯및 造象牙細胞에서 琺瑯및 象牙前質의 形成이 營爲되고 있음을 推定할수있었으나, 200R으로 增量이 되어진 경우에 이르면, 多糖類 및 蛋白에 對한 諸反應所見에서 미루워 보건대 基質形成에 關與하는 造琺瑯및 造象牙細胞의 機能的인 低下 乃至는 障害가 惹起되어짐을 豫想되는것이라 하겠으며, 한편으로는 Swartz and Yaeger[29)]의 見解와같이 炭水化物, 脂質및 蛋白質代謝의 阻害는 基質形成細胞에서의 代謝活動을 抑制혹은 阻害될것이라는點을 引用한다면 基質의 石灰沈着에도 阻害作用이 미치질것이라 思料되는 바이다. 또한 이와같은 造琺瑯및 象牙細胞에서의 機能的인 低下는 形態的인 異常과 配列의 不規則한 組織像에서 미루워보아도 容易하게 認識되어지는데 그程度는 造象牙細胞에서 더욱 顯著하였을 뿐만아니라 같은 發生原基에서 分化된 齒髓細胞에서도 顯著한 變性이 惹起되어 있음으로 放射線의 影響이 姙娠 胎中의 仔白鼠에 作用되어졌음을 立證하는 것이라하겠다. 그리고 其程度는 300R에이르러 더욱 顯著한 變性을 惹起하고 또한 變性範圍도 200R의 경우보다 擴大되어지는 傾向을 取한다고 보겠다.

核酸에對한 染色所見에서는 對照群과 大差없음을 보아 아마도 放射線에 依해 變性된 基質形成細胞의 修復을 爲한 機轉이 形成되어지는 見解이라 推定할수가 있었다.

Ⅴ. 結 言

著者는 姙娠白鼠에 ^{60}Co을 100R, 200R, 및 300R을 照射하고 이로부터 摘出된 仔白鼠에서 放射線照射에서 發育齒胚組織에 미치는 影響을 組織學的및 組織化學的으로 齒胚組織을 構成하는 細胞들에 對한 諸反應所見을 檢索한바 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 100R照射群에서는 組織學的으로 對照群과 別差가 없었다.

2. 照射量을 增量함에 따라(200R)象牙質形成에 異常이 惹起되어 造象牙細胞의 萎縮 및 壞死와 琺瑯質形成不全이 招來되었다.

3. 齒乳頭에서는 血管의 擴張 및 變性이 있었고 또한 甚한 網狀萎縮을 惹起하고 骨樣象牙質이 觀察되었다.

4. 照射量이 增量함에 따라(200R~300R)造琺瑯細胞 및 造象牙細胞에서의 中性多糖類, 酸性粘液多糖類와 蛋白에 對한 反應은 低下되는 傾向이 있고 核酸에 對해서는 大差를 認定할 수가 없었다.

(本 硏究를 끝냄에 있어서 仔詳하시고 嚴하시게 指導鞭撻하여 주신 安炯珪 主任敎授님과 劉東洙 指導敎授님 및 朴兌源 敎授님께 깊은 感謝를 드리며 끝까지 協助하여 주신 本大學 放射線科敎室員 諸位께 謝意를 表합니다.)

參 考 文 獻

1) 朴兌源 : 방사선 방어, 치과방사선, 3:4, 1975.
2) 朴興植 : X-線 및 Cobalt-60 照射가 齒牙 및 齒周組織에 미치는 影響에 關한 實驗的 硏究, 대치협회지, 12:57, 1974.
3) 大竹正敏 : X線照射が 齒牙および口腔諸組織に及ぼす影響, 日本口腔科學會雜誌, 7:74, 1958.
4) *Adachi, T., Murai, T., and Kikuchi, A.*: Effect of radiation on the hard tissue, Part III. Effect of radiation on teeth, The Bull. of Tokyo Med. & Dent. Univ., 4:215, 1957.
5) Adachi, T., Murai, T., Kikuchi, A., and Yonaga, T.: Effect of radiation on teeth, The Bull. of Tokyo Med. and Dent. Univ., 6:145, 1959.
6) Bruce, K.W.: Effect of irradiation on developing dental system, J. Dent. Res., 29:665, 1950.
7) Burstone, M.S., and Levy, B.M.: Effect of x-radiation on jaws of mice, J. Dent. Res., 28:656, 1946.
8) Burston, M.S.: The effect of x-ray irradiation of the teeth and supporting structures of the mouse, J. Dent. Res., 29:220, 1950.
9) Callas, G. and Walker, B.E.: Palate morphogenesis in mouse embryo after x-radiation, Anat. Res., 145, 61. 1963.
10) Dale, P.P.: The effect of x-rays on the rat incisor, J. Dent. Res., 27:730, 1948.
11) Dalrymple, G.V., Gaueden, M.S., Kollmorgen, G.M., and Valgel, H.H.: Medical radiation Biology, Philadelphia, W.B. Saunders Co., 9: 127, 1973.
12) English, J.A. and Tullis, J.L.: Oral manifestation of ionizing radiation, J. Dent. Res., 30:33, 1951.
13) Inoue, M. and Murai, T.: Über die wirkung der Röntgenstrahlen auf des Zahnsystem, Kokubyo-Gakkai-Zasshi, 17:97, 1943.
14) Kimeldorf, D.C., Jones, D.C., and Castanera, T.J.: Review of general subjects, The radiobiology of teeth, Radiation Res., 20:518, 1936.
15) Kalnis, V.: The indirect effect of x-ray irradiation on the dental pulp of the dog, J. Dent. Res., 33:389, 1954.
16) Kikuchi, A.: Effect of radiation on the growing tooth of albino rats, Ochanomizu, M. J. 6:932, 1958.
17) Leist, M.: Über Röntgen Shädigung der Zähne, Ztschr. stomal., H. 90, 1925.
18) *Louis, S.H. and James, A.E.*: Histological change in the incisor teeth of rats serially sacrificed after receiving 1500R. of 200 K.V. x-ray irradiation, J. Dent. Res., 36 ; 417, 1957.
19) Lurie, A.: Effect of low level x-radiation on the mitotic index of hamster basal epithelial cells in vivo, J. Dent. Res., 48:1049, 1969.
20) Medak, M., Schour, I. and Klauber, W.A.: The effect of x-ray irradiation on the eruption of the upper incisor of the albino rat, J. Dent. Res., 28:633, 1949.
21) Medak, H. and Oartel, J.S.: The effect of x-ray irradiation the incisors of the Syrian hamster, Oral Surg., Oral Med. & Oral Path., 7:1011, 1954.
22) Meyer, I., Gerald, S., and Tuner, J.: A comparison of the effects of 200K.V. radiation and Cobalt-60 radiation on the jaw and dental structure, Oral Surg., Oral Med. and Oral Path., 15:1098, 1962.
23) Murai, T.: Über die Wirkung der Röntgenstrahlen auf des Zahnsystem, Kokubyo-Gakkai-Zasshi, 18:146, 1944.

24) Murai, T., Kikuchi, A. and Nakamura, T.: The effect of irradiation on the developing permanent tooth of the young cat, The Bull. of Tokyo Med. & Dent. Univ., 5;81, 1958.

25) Sasaki, T. :Cell cycle and effects of x-irradiation on germ cells of rat incisors (Part 1), Bull. Tokyo Med. & Dent. Univ., 12:376, 1965.

26) Sasaki, T., Nakamura, T. and Murai, T.: Effect of radiation on tooth germ cells of rat incisors in cell cycle, Proc. Intern. Conf., Rad. Biol. Cancer, Kyoto. 125, 1966.

27) Smith, R. D.: The effect of roentgen rays on the developing teeth of rat, J. Am. Dent. Assoc., 18;111, 1931.

28) Smith, R. D.: Effect of x-ray on the developing teeth of rat, Am. J. Orth. & Oral Surg. 24:428, 1938.

29) Swartz, E. M., and Yaeger, J. A.: Succinic dehydrogenase activity in odontoblast, J. Dent. Res., 40:1291, 1961.

30) Weinreb, M., Schour, I., Metak, H., and Klauber, W. A.: Effect of single exposure to x-ray irradiation on the growth rate of dentin of the rat incisor, J. Dent. Res., 28:633, 1949.

31) Willhoit, D., Alexander, J. P.: Effect of x-irradiation on migration of amelogenic cells in the rat incisor, J. Dent. Res., 50:504, 1971.

EFFECT OF COBALT-60 IRRADIATION ON THE DEVELOPING TOOTH GERM OF RAT

Lee Ki Sik, D.D.S., M.S.D.

Dept. of Radiology, Graduate School, Seoul National University.
(Dirrected by Assoc. Prof. **You Dong Soo**, D.D.S., Ph.D.)

≫Abstract≪

The author observed the effects of the cobalt-60 irradiation on the amelogenesis and dentinogenesis of the albino rat fetuses by means of histological and histochemical methods.

Females in oestrus were mated overnight and examined the next morning for evidence of copulation. The lower left abdomen of mothers were exposed to cobalt-60 irradiation on the 10th day of gestation, 100R 200R and 300R respectively. The fetuses were removed from the mothers on the 18th day of gestation.

The employed histochemical methods were PAS reaction, colloidal iron reaction, aldehyde fuchsin stain, α-amino acid reaction, -SH radical reaction and methyl-green pyronin stain.

The results were as follows;

1. The group irradiated by 100R made no histological differences in comparison with the control group.
2. Increasing the irradiation to 200R, abnormal dentin formation occured, and resulted in enamel hypoplasia and in atrophy and necrosis of odontoblasts. In dentinal papilla, the dilation and the degeneration of the blood vessels, excessive reticular atrophy and osteodentin were revealed.
3. With the more irradiation (200R-300R), the positive material of PAS, α-amino acid and aldehyde fuchsin tended to decrease in the ameloblast and the odontoblast. No significant changes appeared in DNA, the stainability of methylgreen pyronin.

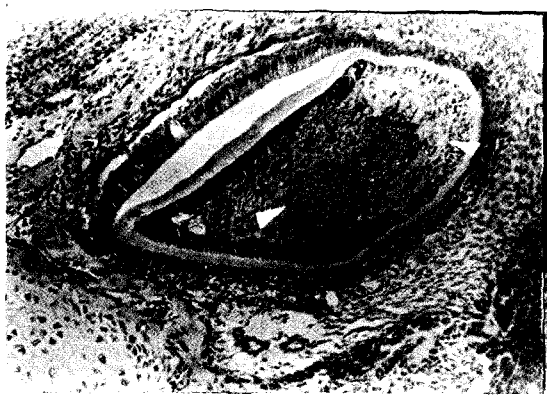

Fig. 1. 200R 照射群, 齒髓血管의 擴張과 骨樣象牙質의 出現, Hematoxylin-eosin 染色, ×100

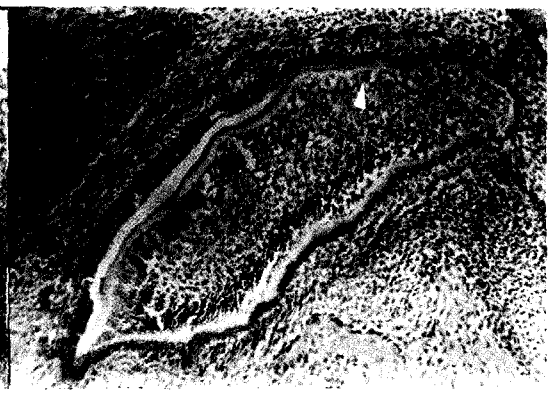

Fig. 2. 300R 照射群, 象牙質의 灣曲 및 造象牙細胞의 變性, Hematoxylin-eosin 染色, ×100

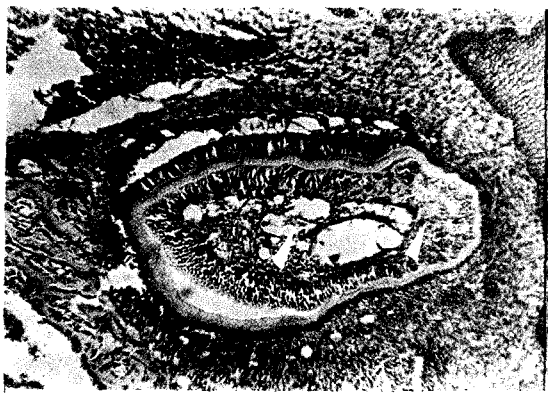

Fig. 3. 300R 照射群, 齒髓 및 齒囊血管의 變性과 骨樣象牙質, Hematoxylin-eosin 染色, ×100

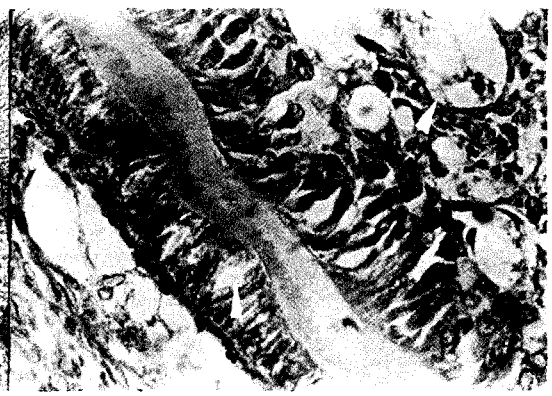

Fig. 4. 300R 照射群, 造琺瑯細胞의 變性과 齒髓의 巢胞, Hematoxylin-eosin 染色, ×400

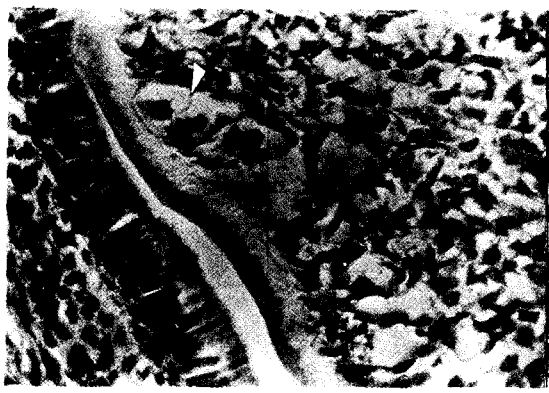

Fig. 5. 300R 照射群, 造象牙胞細의 變性과 齒髓의 網狀萎縮 Hematoxylin-eosin 染色, ×400

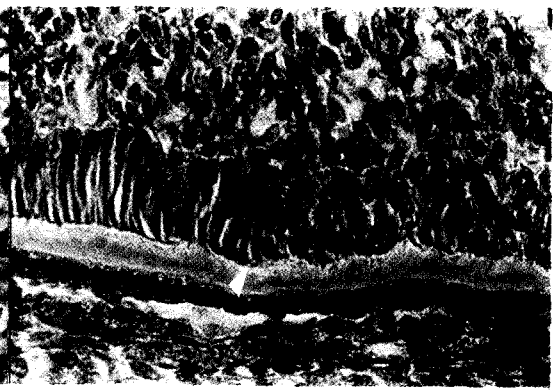

Fig. 6. 300R 照射群, 造象牙細胞의 短小, Hematoxylin-eosin 染色, ×400

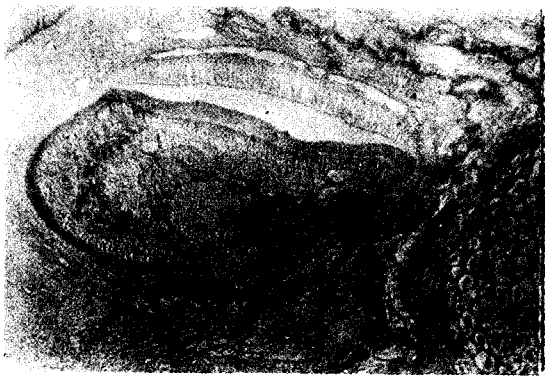

Fig. 7. 200R 照射群,
PAS 反應, ×100

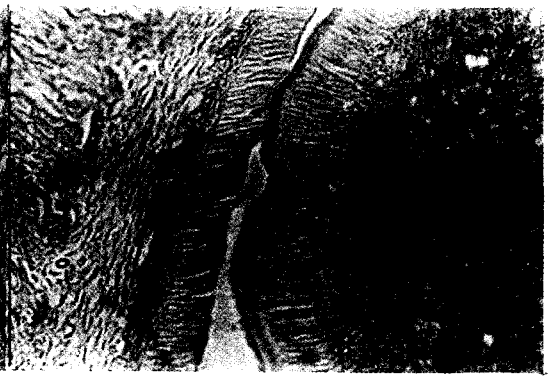

Fig. 8. 300R 照射群,
Colloidal iron 反應, ×200

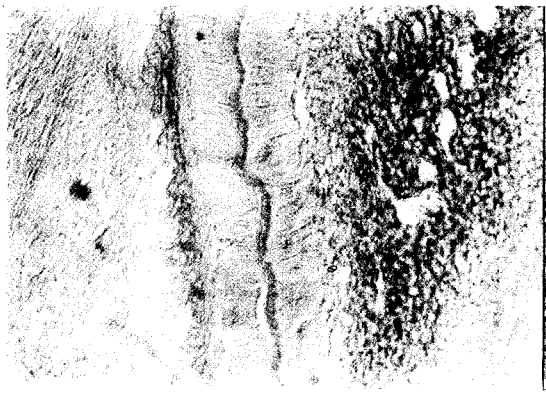

Fig. 9. 200R 照射群,
Aldehyde fuchsin 染色, ×200

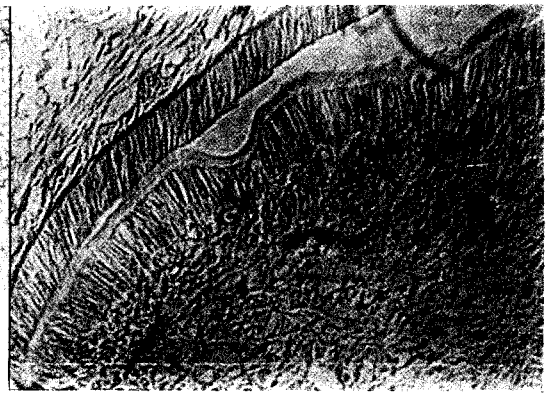

Fig. 10. 300R 照射群,
α-amino酸 反應, ×200

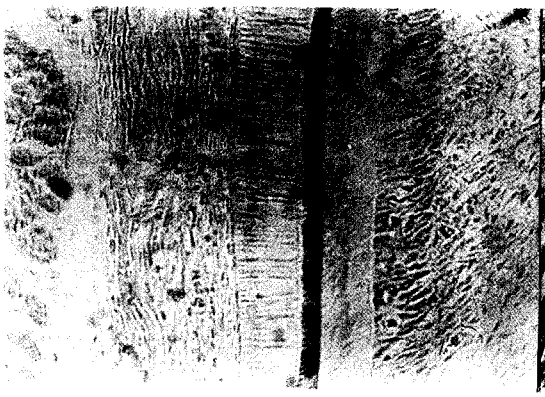

Fig. 11. 100R 照射群,
SH基 反應, ×200

Fig. 12. 300R 照射群,
Methylgreen pyronin 染色, ×400