

Cytosine Arabinoside가 白鼠 前齒 石灰化에 미치는 影響에 關한 實驗的 研究

朝鮮大學校 大學院 齒醫學科 口腔病理學專攻

(指導教授 趙 載 五)

孫 周 幹

一 目 次

- I. 緒 論
- II. 實驗材料 및 方法
 - 1. 實驗材料
 - 2. 實驗方法
- III. 實驗成績
 - 1. Tetracycline line生性的 比率 變化
 - 2. 顯微鏡的 所見
- IV. 總括 및 考按
- V. 結 論
 - 參考文獻
 - 英文抄錄
 - 寫真附圖

I. 緒 論

齒牙硬組織의 發育過程에 어떤 發育障害 因子를 作用시켜 惹起되는 多様な 變化를 여러 側面에서 檢索함은 齒質形成過程의 一端을 究明하는데 意義가 있다고 하겠다.

抗癌劑로 利用되고 있는 cytosine arabinoside는 1-β-D-arabinofuransylcytosine의 構造式을 가진 代謝抑制劑로서 比較的 最新의 化學療法劑이며, 一名 Cytarabine, Arabinosylcytosine, Ara-C라고 한다.^{6, 8)}

Cytosine arabinoside는 Evans(1960)²⁴⁾가 처음으로 合成하고 腫瘍의 成長을 抑制한다고 報告하였고, Tally等(1963)⁴⁴⁾이 人間에게도 抗癌作用이 可能하다고 報告한 以來 그 作用機轉과 臨床的 應用에 對

해서는 많은 研究가 있었다. Cytosine arabinoside에 關한 研究로는 急性白血病이나 全身的으로 擴散되어 一般的 療法에 效果가 없는 惡性淋巴腫의 治療에^{19, 21, 22, 25)}, 惡性腫瘍의 成長抑制에^{29, 51)}, Escherichia Coli에 있어서 Desoxyribonucleic acid(DNA) 및 細胞分裂의 抑制에³¹⁾, Ribonucleotide Reductase의 抑制와 Ribonucleic acid, (RNA) 및 DNA 와의 結合^{21, 42)}, DNA Polymerase를 抑制³⁰⁾, 눈의 細菌感染 治療에⁴⁵⁾, 그리고 쥐의 纖維芽細胞의 RNA 및 DNA와 結合하여 細胞에 毒性的 影響을⁴²⁾ 준다는 등의 研究 報告가 있다.

齒科領域에서는 朴(1975)²⁾은 Cytosine arabinoside가 白鼠 唾液腺의 核酸 및 蛋白合成에 미치는 影響에 關하여, 禹(1979)³⁾는 白鼠 耳下腺에 미치는 影響에 對하여 電子顯微鏡的으로 研究하였고, 金(1977)⁴⁾은 Cytosine arabinoside와 Polyribonucleotides가 白鼠 前齒 齒髓組織에 미치는 影響에 關하여 研究 報告하였으며, 趙(1981)⁴⁾는 Cytosine arabinoside를 受胎白鼠에 投與하여 發生中의 齒胚成長過程에 미치는 影響을 報告한 바 있다. Person等(1957)^{36, 37)}은 phosphoramidate系의 抗癌化學療法劑를 使用하여 齒周組織, 舌, 唾液腺, 口腔粘膜에 미치는 組織反應을 報告하였으며, Chaube等(1969)²⁰⁾은 Cytosine系의 5-Fluorocytosine을 受胎白鼠에 投與하여 胎生期 白鼠에 미치는 形態的 變化를 研究한 바 있다.

白鼠의 前齒는 繼續 成長 發育하는 齒牙로서 齒根端部에, 該當되는 곳에 齒胚組織이 存在하고 있어 그 構造와 機能은 他組織과 다른 特徵을 이루고 있다. 著者는 이와같이 硬組織形成能力이 旺盛한 前齒에서 Cytosine arabinoside가 齒牙發育過程에 미

치는 影響을 觀察하고자 實驗的으로 白鼠에 Cytosine arabinoside를 投與하여 組織學的, 組織化學的 및 螢光顯微鏡的으로 檢索하여 知見을 얻었기에 이를 報告하는 바 이다.

II. 實驗材料 및 方法

1. 實驗材料

實驗動物은 體重 150g 内外의 Sprague Dawley系 白鼠 36頭를 雌雄 區別없이 一定期間 配合飼料로 飼育하여 條件을 同一하게 調節하였다.

2. 實驗方法

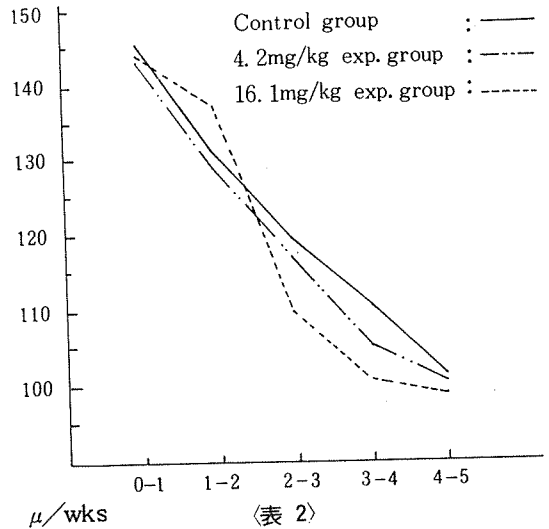
36頭의 實驗動物은 7日 間隔으로 Oxytetracycline hydrochloride(테라마이신, K. P, 韓國화이자(株)製)를 體重 kg當 20mg 腹腔內注射한 後 各 12頭씩 3個群으로 分類하여 一群은 對照群으로 하였고, 實驗群은 Oxytetracycline hydrochloride投與 2日 後에 Cytosine arabinoside(Cytarabine, K. P, 大韓中外製藥(株)製)를 體重 kg當 最低 治療量인 4.2mg (1日:0.6mg), 最高 治療量인 16.1mg(1日:2.3mg)을 7日 間隔으로 腹腔內注射하여 實驗一群 및 二群으로 하였다. 모든 實驗動物은 5週間 飼育後 犧牲시켜 下顎骨을 切取하여 그 하나는 通法에 따라 10% 中性 formalin에 固定하고, Plank Rychlo 溶液으로 脫灰하여 Paraffin包埋法으로 埋沒하고 5~8 μ 程度의 組織切片標本을 製作하여 hematoxyline-osin二重染色(H-E二重染色) 및 糖原 觀察을 爲한 periodic acid-schiff(P. A. S)反應¹⁰⁾, 酸性粘膜多糖類 觀察을 爲한 Alcian blue反應, 石灰化 觀察을 爲한 Von Kossa反應을 施行하여 檢鏡하였고, 나머지 下顎骨은 Oxytetracycline hydrochloride 投與 後 生

成되는 fluorescence band를 檢鏡하기 爲하여 下顎前齒를 中心으로 50~60 μ 程度의 研磨標本을 製作한 後 螢光顯微鏡下에서 ocular micrometer를 利用하여 Oxytetracycline hydrochloride가 齒牙硬組織에 沈着되어 形成된 fluorescence band들의 間隔을 測定하였다.

III. 實驗成績

1. Tetracycline line 生成의 比率 變化

齒牙硬組織에 沈着된 Tetracycline line을 螢光顯微鏡下에서 Ocular micrometer를 利用하여 觀察한 바 tetracycline line은 tetracycline을 投與한 一週日 間隔마다 彌漫性 線狀으로 五層이 나타났으며, 各 齒牙는 臨床의 齒冠의 咬頭부터 顎骨內 齒胚가 常在하는 部位까지의 中間部位, 即 第一大臼齒 下



〈表 1〉 Oxytetracycline hydrochloride 投與 後 生成된 fluorescence band의 間隔 單位: μ

Group	Control group	Expe. group	Expe. group
Week	Mean \pm (S.D.)	4.2mg/kg Mean \pm (S.D.)	16.1mg/kg Mean \pm (S.D.)
0 - 1	145 (2.17)	143 (1.45)	144 (2.68)
1 - 2	132 (2.17)	129 (2.21)	137 (1.46)
2 - 3	119 (1.88)	117 (2.09)	108 (1.86)
3 - 4	111 (2.15)	105 (1.87)	99 (1.11)
4 - 5	102 (0.84)	99 (1.23)	97 (2.86)
Total	121 (1.52)	118 (1.58)	117 (1.97)

方을 中心으로 選擇하여 生成된 tetracycline line들의 間隔을 測定하여 對照群과 實驗群 間에 各各의 測定值를 比較한 結果, 對照群 및 實驗群은 實驗一週日에서는 tetracycline line 生成에 큰 差異는 없었으나 實驗二週 乃至 三週부터는 若干의 差異가 發生하기 始作하였으며, 實驗群에서는 全般的으로 對照群보다 tetracycline line 生成間隔이 좁아져 있었고, 象牙質에서는 tetracycline line이 明確하였으나 珐瑯質에서는 明確하지 않았다. (表 1, 2 參照)

2. 顯微鏡의 所見

1) 對照群

① Hematoxylin-Eosin 二重染色 所見

珐瑯芽細胞는 잘 發達된 長円柱形으로 核은 基底膜에서 遠心部에 位置하며 漏斗狀의 規則的인 排列을 이루는 成熟珐瑯芽細胞層을 나타내고 있으나 成熟 白鼠이므로 星網層이나 外珐瑯上皮層은 보이지 않았다. 內珐瑯上皮에 隣接하여 2~3層의 長橢圓形의 細胞로 構成된 中間細胞層이 存在하였으며 新生 珐瑯基質이 나타났다. 齒髓頂에는 珐瑯芽細胞에 比해 크기가 작은 象牙芽細胞가 長円柱形으로 排列되어 있었고, 小數의 赤血球가 象牙芽細胞層에 浸潤되어 있었으며 象牙質과 象牙基質의 形成을 觀察할 수 있었고 齒髓內에는 幼若한 纖維芽細胞, 新生毛細血管의 分布 및 毛細血管의 擴張에 依해 그 內에 赤血球充血을 觀察할 수 있었다.

② 組織化學의 所見

P. A. S. 反應에서 珐瑯芽細胞는 弱反應을 나타내 었으나 內珐瑯上皮層, 象牙芽細胞 및 中間細胞層은 中等度反應을 보였으며, 象牙質은 強反應을 나타내 었다.

Alcian blue反應에서 內珐瑯上皮層과 珐瑯芽細胞 및 象牙芽細胞가 中等度乃至 強反應을 보였으며, 中間細胞層은 彌漫性的 弱反應을 나타내었다.

Von Kossa反應에서는 珐瑯芽細胞의 基底層 및 象牙基質만이 中等度反應을 나타내었다.

2) 實驗群

① 體重 kg當 4.2mg 投與群

i) Hematoxylin-Eosin 二重染色所見

珐瑯芽細胞의 크기가 對照群에 比해 커지고 核濃縮傾向을 보였으며, 漏斗狀 排列樣相도 不規則하고 細胞質內에 空胞가 存在하였으며, 中間細胞層은 1~2層의 橢圓形 細胞로 變化하였고 小數의 赤血球가 浸潤되어 있었으며, 新生珐瑯基質은 對照群보다 多少 얇은 두께를 나타내었고, 根端象牙質 1/2部位까지는 象牙芽細胞가 機能的 排列을 하다가 齒髓頂

에서 急激히 細胞의 形態가 紡錘形 및 多角形을 이루는 象牙芽細胞의 變化를 觀察할 수 있었고 核濃縮傾向이 나타났으며, 一部에서는 空胞形成에 依해 細胞가 分離되어 있었다. 新生象牙質 및 象牙基質의 두께가 對照群에 比해서 多少 얇아져 있었으나 象牙質과 象牙基質의 境界가 比較的 뚜렷하였으며 齒髓內는 象牙芽細胞直下方에 多數의 毛細血管 出現과 擴張을 볼 수 있었으며, 그 內에 赤血球 充血을 觀察할 수 있었다.

ii) 組織化學의 所見

P. A. S. 反應에서 內珐瑯上皮層은 弱反應을 나타내 었으나 珐瑯芽細胞 및 中間細胞層은 中等度反應을 보였고, 象牙質은 強反應, 象牙基質은 彌漫性的 弱反應을 보였으며, 象牙芽細胞는 中等度の 反應을 나타내었다.

Alcian blue反應에서 內珐瑯上皮層 및 珐瑯芽細胞는 中等度の 反應을 보였으며, 中間細胞層은 弱反應, 象牙芽細胞 및 象牙基質은 中等度の 反應을 나타내었다.

Von Kossa反應에서는 珐瑯芽細胞의 基底層 및 象牙基質만이 弱反應을 보였다.

② 體重 kg當 16.1mg 投與群

i) Hematoxylin-Eosin 二重染色 所見

內珐瑯上皮層內에 多數의 空胞形成에 依해 細胞間隔이 넓어져 있었고, 珐瑯芽細胞의 形態는 不分明하고 漏斗狀의 排列도 거의 消失되었으며, 珐瑯芽細胞의 細胞質에 甚한 萎縮이 나타났으며, 中間細胞層은 거의 不規則한 單層立方乃至 橢圓形으로 甚한 赤血球 浸潤을 나타내었고, 新生珐瑯基質은 若干 存在하고 一部에서는 消失되기도 하였으며, 齒髓頂은 紡錘形의 象牙芽細胞로 構成되어 있었으나 不分明한 象牙芽細胞層을 이루고 있었고, 根端象牙質部位의 象牙芽細胞는 거의 短立方形의 細胞形態로 變化되었으며, 象牙質의 두께는 對照群에 比해 若干 減少한 反面 象牙基質의 두께는 顯著히 減少하였고, 齒髓內에서는 內皮細胞의 擴張 및 多數의 毛細血管 擴張은 있었으나 新生毛細血管의 出現은 觀察하지 못하였다.

ii) 組織化學의 所見

P. A. S. 反應은 內珐瑯上皮層 및 珐瑯芽細胞는 彌漫性的 弱反應을 보였으며, 中間細胞層 및 象牙芽細胞는 弱反應을 보였고, 象牙質은 中等度反應을 나타낸 反面 象牙基質은 彌漫性的 弱反應을 나타내 었다.

Alcian blue反應에서 內珐瑯上皮層, 珐瑯芽細胞,

間細胞層은 弱反應을 나타내었고, 象牙芽細胞는 慢性的 弱反應을 나타내었다.

Von Kossa反應에서는 象牙基質만이 弱反應을 나타내었다.

IV. 總括 및 考按

白鼠 前齒에는 齒質形成의 原基인 齒胚組織이 常子해서 恒時 瑛瑯質을 形成하는 瑛瑯芽細胞와 象牙質 形成에 關與하는 象牙芽細胞가 各己 未分化細胞에서 齒牙硬組織形成中の 瑛瑯芽細胞 或은 象牙芽細胞로 分化되기 까지의 特定한 組織構造를 가지고 있다. 한편 齒髓組織에서는 어떤 刺戟下에서 象牙芽細胞는 勿論 未分化間葉細胞에서도 象牙芽細胞가 分化될 수 있고, 齒髓의 纖維芽細胞도 象牙基質形成에 關與함으로 白鼠 前齒는 生涯를 通해서 繼續的인 齒質形成能力을 갖는 細胞成分을 保有하고 있다.^{43, 50} 이와같이 成長 發育을 繼續하는 齒牙는 局部的 또는 全身의 障害因子가 作用되는 경우 여러 樣相의 發育異常을 손쉽게 觀察할 수 있는 特有한 齒牙라 하겠다.

Cytosine arabinoside는 Evans(1960)²⁴가 처음으로 合成하였으며, 小兒 및 成人의 急性 白血病에 有効성이 높은 抗癌劑이고, 近來에는 다른 抗癌劑와 함께 併用療法으로 消化器癌, 肝臟癌, 脾臟癌, 肺癌, 乳房癌, 子宮癌 等に 使用하고 있다.

Cytosine arabinoside(Ara-C, Cytarabine, Arabinosylcytosine)는 癌治療에 利用되고 있는 代謝抑制劑中 1-β-D-arabinofuransylcytosine의 構造式을 갖는 化學療法劑로서 作用은 purine, pyrimidine同族體로서의 purine base 그 自體보다 ribonucleoside의 糖構造의 化學的 變形에 起因된다. 即 cytosine ribonucleoside diphosphate의 ribose構造를 deoxyribose로 轉換하여 DNA合成을 抑制하는 作用을 나타낸다. Chu等(1965)²¹은 cytosine arabinoside의 作用機轉은 먼저 cytosine diphosphate reductase를 阻害하여 그 結果 cytosine phosphate의 不足을 일으켜서 DNA合成이 抑制된다고 報告하였으며, Doring等(1966)²²도 cytosine arabinoside가 蛋白合成을 抑制하며, 이는 DNA合成 抑制에 依한 것으로서 RNA抑制에 起因되는 것은 아니라고 하였으며, 또한 細胞의 50~80%에서 細胞分裂을 抑制시켰다고 報告하였다.

Freireich(1967)²⁵는 人體의 肝臟이나 血球에서 이 抗癌劑를 非活性化시키는 酵素가 多量 存在하므

로 臨床的으로 間歇的 投與보다 繼續的 投與가 效果가 있으며, 또한 癌細胞가 갖는 細胞周期의 特性을 考慮하여 細胞周期中 S-phase(DNA合成時期)에 作用하여야 效果가 있다고 報告하였고, Prusoff等(1973)³⁹은 non-antibiotic viral inhibitors에 屬한다고 하였으며, Graham等(1979)²⁷은 濃度에 따라 DNA合成의 抑制度가 다르고 DNA合成이 抑制되면 細胞가 壞死된다고 하였고, Kimball(1968)³⁰은 DNA合成을 抑制함은 DNA polymerase level의 抑制의 結果라 하였다.

Cytosine arabinoside의 齒科領域에 關聯된 研究로는 朴(1975)²은 白鼠 耳下腺과 顎下腺의 蛋白과 DNA合成을 抑制한다고 하였으며, 禹(1979)³는 白鼠 耳下腺에 미치는 影響을 電子顯微鏡的으로 研究하여 分泌顆粒의 異常을 報告하였고, 趙(1981)⁴는 白鼠의 齒牙形成時期에 미치는 影響의 研究에서 體重 kg當 50mg 投與群의 9日, 11日, 13日注射群에서 口蓋裂, 口脣裂, 矮小顎, 短絡障尾(short kinked tail)를, 9日注射群에서 下顎 正中部裂을 觀察 報告하였다.

抗生物質의 하나인 tetracycline系 藥物은 쉽게 重金屬鹽과 結合하는 性質이 있음을 利用하여 硬組織의 石灰化 進行部位를 選擇的으로 標識하는 하나의 marking agent로서 ⁴⁵Ca나 ³²P와 같은 isotope보다 다루기가 簡便하여 흔히 使用된다.^{5, 14, 17, 18} Regna等(1951)⁴¹, Albert等(1953)⁴², (1956)⁴³, Urist(1963)⁴⁶, Weinberg(1957)⁴⁹等은 tetracycline系 藥物은 體內에서 칼슘, 마그네슘, 鐵, 亜鉛等の 金屬이온과 쉽게 結合하여 chelation을 일으켜서 血液과 原形質의 酵素界 機能이 抑制되어 代謝過程에 障 碍을 미친다고 報告하였고, Wallman等(1962)^{47, 48}은 骨과 齒牙에 tetracycline沈着은 tetracycline이 칼슘이온과 結合하여 tetracycline calcium-orthophosphate라는 複合體 形成에 依한 것이며, 螢光作用 및 黃色의 瑛瑯質形成不全을 報告하였다. Milch等(1958)³²은 tetracycline系 藥物을 投與後 紫外線下에서 螢光物質은 腹腔內注射後 30分內와 靜脈內注射後 거의 即時 腦를 除外한 모든 體內組織에서 彌漫性으로 나타났으며, 이 螢光物質은 6時間 以內에 骨을 除外한 모든 組織에서 消失되었으나 骨內의 螢光物質은 10週間 持續되었다. kg當 0.3mg의 少量을 投與한 後에도 螢光物質을 檢出할 수 있으며, 새로운 骨이 增殖되는 部位에 局限되어 나타 난다고 하였고, Yen等(1975)⁵²은 kg當 25mg의 tetracycline投與時에는 組織學的 毒性的의 證據를 觀察

하지 못하였으며, kg當 80mg 投與時에는 約 21日 間 骨成長이 抑制되었음을 報告하였다. 齒牙形成 期間동안 tetracycline系 藥物을 投與받은 幼兒의 乳齒나 永久齒의 珐瑯質形成不全과 齒牙着色에 關한 報告는 多數 알려져 있으며^{7, 33, 34, 38, 47, 48}, Owen (1961)³⁵; Bennett (1965)¹⁵ 등은 螢光物質을 檢出하였다.

本 實驗에서 5週동안 1週 間隔으로 oxytetracycline hydrochloride를 投與한 結果 螢光顯微鏡下에서 5層의 tetracycline line이 生成되었음은 齒牙硬組織形成期間中 tetracycline이 칼슘等 金屬이온과 結合하여 tetracycline-calcium-orthophosphate 라는 複合體 形成을 示唆하여 Owen(1961)³⁵; Bennett (1965)¹⁵; Wallman(1962)^{47, 48} 등의 研究 結果와 類似하였다. 本 實驗一週에서는 對照群 및 實驗群 모두 齒牙硬組織形成에 別 差異가 없었으나 實驗1~2週의 16.1mg投與群에서 137 μ 으로 他群에 比해서 높은 數値를 나타낸 것은 測定의 差異 및 個體의 特性으로 思料된다. 實驗2~3週에서는 1~2週에 比해서 平均 12~29 μ 의 差異를 觀察할 수 있었고 kg當 4.2mg 投與群은 平均 118 μ 을 나타내었으나 16.1mg 投與群은 117 μ 을 나타내어 多少의 差異를 觀察할 수 있는 것으로 보아 對照群에 比해 實驗群은 石灰化遲延 및 基質形成이 減少되는 것으로 思料되었다. (表 1, 2)

齒牙硬組織의 基質形成時 珐瑯芽細胞와 象牙芽細胞內에서의 炭水化物代謝는 特히 重要한 炭水化物代謝는 組織을 構成하는 主成分인 粘液多糖類의 合成, 膠原質의 合成에 必要한 glycine, hydroxyproline의 炭素構造合成 및 石灰化過程에서 phosphate ester合成을 爲한 基本物質의 生成等を 主導하는 役割을 하고 있기 때문에⁹ 珐瑯芽細胞와 象牙芽細胞에서의 糖原, 粘液多糖類에 關한 組織化學的 研究가 多數 研究되어왔다. 糖原은 發生中인 口腔上皮, 齒堤外珐瑯上皮, 星網層에서 많은 量이 나타나며, 中間細胞層, 珐瑯芽細胞層, 象牙芽細胞層, 齒髓에 多樣하게 나타난다. Horowitz(1942)²⁸는 사람의 胎兒와 白鼠의 珐瑯芽細胞의 糖原陽性反應을 報告하였고, Quitarelli等(1963)⁴⁰은 齒堤, 內珐瑯上皮, 星網層, 齒乳頭에 存在하는 糖原은 內珐瑯上皮가 珐瑯芽細胞로 分化되면서 含量이 增加하나, 珐瑯基質形成時期에 이르면 顯著히 減少됨을 觀察하였으며, Engel(1948)²³; Bevelander等(1955)¹⁶은 珐瑯基質形成前의 珐瑯芽細胞는 P. A. S.에 弱反應을 보이거나 基質形成直前에는 強反應을 보인다고 하였

다.

本 實驗에서는 P. A. S.反應에서 珐瑯芽細胞는 實驗群보다 對照群에서 弱反應을 보인 바 이는 基形成 또는 石灰化를 爲하여 繼續 使用하고 있기 문일 것으로 推定되어 Quitarelli等(1963)⁴⁰의 研究結果와 類似하였으나 Engel(1948)²³; Bevelander等(1955)의 研究結果와는 多少 差異를 나타내었다. 이는 繼續적으로 珐瑯質을 形成하는 成熟 白鼠를 實驗動物로 使用하였기 때문으로 思料된다. 實驗群의 kg當 4.2mg 投與群에서 一部 中等度反應을 나타내었으며, 對照群에 比하여 實驗群은 象牙芽細胞, 中間細胞層에서 全般的인 減少反應을 보였다. 이는 實驗群에서 持續적인 Cytosine arabinoside 投與에 依하여 基質形成能力이 遲延되는 것으로 思料되었다.

Avery(1955)¹³는 珐瑯芽細胞와 象牙芽細胞는 基質形成時에 酸性粘液多糖類가 增加한다고 하였고, Fullmer等(1958)²⁶은 珐瑯基質과 象牙質의 境界部에 酸性粘液多糖類가 出現하면 珐瑯質形成이 惹起된다고 報告한 바 있으며, Bevelander等(1955)¹⁶은 酸性粘液多糖類는 發生中의 齒牙構造, 星網層, 珐瑯基質, 齒髓에서 發見된다고 하였다.

本 實驗의 Alcian blue 反應에서 對照群은 內珐瑯上皮層, 珐瑯芽細胞, 象牙芽細胞層에서 中等度乃至 強反應을 보였으나 實驗群에서는 全般的으로 弱反應을 나타내 基質形成이나 石灰化形成이 對照群에 比해 減少하는 所見을 보여 Avery(1955)¹³; Fullmer等(1958)²⁶; Bevelander等(1955)¹⁶의 先學者들의 研究 結果와 類似하였다.

齒牙發育에 있어서 基質이 形成되고 이에 따라 石灰化 機轉이 일어나는 現象을 만족스럽게 說明할 만한 定說이 아직 報告되지 않았으나 Bhasker (1980)⁵는 象牙質은 齒髓組織에서 Von Koff's fiber가 化學的 成分이 置換되어 膠原纖維로 되며 象牙芽細胞는 纖維間物質을 分泌하고 여기에 無機質이 沈着하여 石灰化되며 石灰小球가 서로 癒合되어 齒髓에서 먼 部位로 부터 solid mass를 形成한다고 하였다.

本 實驗의 Von Kossa反應 結果 對照群은 珐瑯芽細胞基底層에서 中等度反應을 보였고, 象牙芽質과 隣接한 象牙質에서 먼저 微細한 顆粒이 沈着된 後 全 象牙質層으로 擴散되는 樣相을 보였으나 實驗群에서는 象牙基質만이 弱反應을 나타내었다.

V. 結 論

著者は代謝抑制劑 Cytosine arabinoside 投與가 白鼠 前齒 石灰化에 미치는 影響을 糾明하기 爲하여 組織學的, 組織化學的, 螢光顯微鏡的으로 觀察한 바 다음과 같은 結論을 얻었다.

1. 全般的으로 實驗群은 對照群에 비해 oxytetracycline hydrochloride 投與 後 生成된 fluorescence band들의 間隔이 좁아져 있었다.

2. 實驗一週에서 對照群 및 實驗群의 fluorescence band 生成 間隔은 別 差異가 없었으나 實驗二週 乃至 三週부터 若干의 差異를 觀察할수 있었고 kg當 4.2mg 投與群과 16.1mg 投與群 間에도 多少 差異가 나타났다.

3. 實驗群에서 珐瑯芽細胞와 象牙芽細胞의 核濃縮 및 空胞形成이 甚하였다.

4. Periodic acid-Schiff 및 alcian blue反應에서 實驗群의 糖原 및 酸性粘液多糖類의 分布는 對照群에 비해 減少되는 樣相을 나타내었다.

5. Von Kossa 反應에서 對照群은 珐瑯芽細胞 基底層 및 象牙基質과 隣接한 象牙質에서 中等度反應을 보였으나 體重 kg當 16.1mg 投與群에서는 象牙基質만이 弱反應을 나타내었다.

6. Cytosine arabinoside投與는 齒牙石灰化에 全般的인 影響을 미쳐서 實驗群은 對照群에 비해 遲延되는 傾向을 나타내었다.

(本 論文을 指導하여 주신 趙泳弼 學長님, 趙載五 教授님, 助言을 아끼지 않으신 口腔外科 金學元 教授님께 感謝드리는 바이다.)

參 考 文 獻

1. 金成龍: "Cytosine arabinoside와 polyribonucleotides가 흰쥐 切齒 齒髓組織에 미치는 影響에 관한 研究." 「大韓口腔解剖學會誌」, 1: 21-29, 1977.
2. 朴昌義: "Cytosine arabinoside가 白鼠 唾液腺의 核酸 및 蛋白合成에 미치는 影響에 관한 研究." 「大齒會誌」, 13: 303-311, 1975.
3. 禹亨植: "Cytosine arabinoside가 흰쥐 耳下腺에 미치는 影響에 관한 電子顯微鏡的 研究." 「大韓口腔解剖學會誌」, 3: 1, 13-20, 1979.
4. 趙載五: "Cytosine arabinoside가 仔白鼠 齒牙

發育에 미치는 影響에 관한 實驗的 研究." 「慶熙齒大論文集」, 3: 9-22, 1981.

5. Bhasker, S.N.: Oral histology and embryology, 9th ed. St. Louis, C.V. Mosby Co., 1979, P.P. 134-137.
6. Cjine M.J.: Cancer chemotherapy, Phila., W.B. Saunders Co., 1971, P.O. 20-28.
7. Davis, P.A., Little, K., Aherne, W.: "Tetracycline and yellow teeth," *Lancet* (April 7) 1962, P.P. 743.
8. Godman, L.S., and Gilman, A.: The pharmacological basis of therapeutics, 5th ed. New York, McMillan pub. Co., 1975, P.P. 1280-1281.
9. Lazzari, E.P.: Dental biochemistry, 2nd ed. Phila., Les & Febiger., 1968, P.P. 182-183.
10. Luna, L.G.: Manual of histologic staining methods of the Armed Force Institute of Pathology, 3rd ed. McGraw Hill Book Co., 1968.
11. Albert, A.: "Avidity of terramycin and aureomycin for metallic cation," *Nature*, 172: 201, 1953.
12. Albert, A., and Rees, C.W.: "Avidity of the tetracyclines for the cations of metals," *Nature*, 177: 434, 1956.
13. Avey, Z.K.: "Acid mucopolysaccharides and nucleic acid in developing teeth," *J. Dent. Res.*, 34: 670, 1955.
14. Bang, S., and Enlow, D.H.: "Postnatal growth of the rabbit mandible," *Arch. Oral Biol.*, 12: 993-998, 1967.
15. Bennett, I.C., and Law, D.B.: "Incorporation of tetracycline in developing dog enamel and dentin," *J. Dent. Res.*, 44: 788-793, 1965.
16. Bevelander, G., and Johnson, P.C.: "The localization of polysaccharides in developing teeth," *J. Dent. Res.*, 34: 123-131, 1955.
17. Bevelander, G., and Nakahara, H.: "Correlation between tetracycline binding and mineralization in dentin and enamel," *Anat. Rec.*, 153: 141-147, 1965.

18. Bloore, J.J., Furstman, L., and Bernick, S.: "Postnatal development of the cat palate," *Am. J. Orthodont.*, 56: 505-515, 1969.
19. Burke, P.J.: "A clinical evaluation of dose and schedule of administration of cytosine arabinoside," *Cancer Res.*, 28: 274-286, 1968.
20. Chaube, S., and Murphy, M.L.: "The teratogenic effects of 5-fluorocytosine in the rat," *Cancer Res.*, 29: 554-557, 1969.
21. Chu, M.Y., and Fischer, G.A.: "Comparative studies of leukemic cells sensitive and resistant to cytosine arabinoside," *Biochem. Pharmacology.*, 14: 333-341, 1965.
22. Doering, A., Keller, J. and Cohen, S.S.: "Some effects of D-arabinosides on polymerase synthesis in mouse fibroblasts," *Cancer Res.*, 26: 2444-2450, 1966.
23. Engel, M.: "Glycogen and Carbohydrate-protein complex in developing teeth of the rat," *J. Dent. Res.*, 27: 681-192, 1958.
24. Evans, J.S., Musser, E.A., Mengel, G.D., Forsblad, K.R., and Hunter, J.H.: "Antitumor activity of 1-c-D-arabinofuranosylcytosine hydrochloride," *Proc. Soc., Exptl. Biol. Med.*, 106: 350-353, 1960.
25. Freireich, E.J.: "Therapy for acute granulocytic leukemia," *Cancer Res.*, 27: 2573, 1967.
26. Fullmer, H.M., and Alpher, N.: "Histochemical polysaccharide reactions in human developing teeth," *Lab. Invest.*, 7: 163, 1958.
27. Graham, F.L., and Whitmore, G.F.: "Studies in mouse L-cells on the incorporation of 1-β-D-arabinofuranosylcytosine into DNA and on inhibition of DNA polymerase by 1-β-D-arabinofuranosylcytosine 5'-triphosphate," *Cancer Res.*, 30: 2636-2644, 1970.
28. Horowitz, H.: "Histochemical study of phosphate and glycogen in fetal heads," *J. Dent Res.*, 21: 519, 1942.
29. Howard, J.P., Albo, V. and Newton, W.A.: "Cytosine arabinoside, results of a cooperative study in acute childhood leukemia," *Cancer*, 21: 341-349, 1968.
30. Kimball, A.P., and Wilson, M.J.: "Inhibition of DNA polymerase by 1-β-D-arabinosylcytosine and reversal of inhibition by Deoxycytidine 5'-Triphosphate," *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, 127: 429-432, 1968.
31. Lark, K.G., and Lark, C.L.: "Evidence for two distinct aspects of the mechanism regulating chromosome replication in Escherichia Coli," *J. Mol. Biol.*, 10: 120-136, 1964.
32. Milch, R.A., and RALL, D.P., and Tobie, J.E.: "Fluorescence of tetracycline antibiotics in bone," *J. of bone & joint surg.*, 40: 897-910, 1958.
33. Miller, J.: "Tetracycline in teeth and bone," *Lancet* (may 19) 1962, P.P. 1072.
34. Moynahan, E.J.: "Tetracycline in teeth and bone," *Lancet* (May 5) 1962, P.P. 969-970.
35. Owen L.N.: "Fluorescence of tetracyclines in bone tumors, normal bone and teeth," *Nature.*, 190: 500-504, 1961.
36. Person, P., Stanl, S.S., Crossley, M.L., Allison, J.B., and Brunswick, N.: "Histologic responses of rat oral tissues to non-oral tumor growth and to cancer chemotherapeutic agents. I. periodontal tissue," *Oral Surg.*, 10: 847-856, 1957.
37. Person, P., Stahl, S.S., Crossley, M.L., Allison, J.P., and Brunswick, N.: "Histologic responses of rat oral tissues to nonoral tumor growth and to cancer chemotherapeutic agents. II. tongue, salivary gland and oral mucosa," *Oral Surg.*, 10: 1075-1080, 1957.
38. Porteous, J.R., Weyman, J.: "Tetracycline and yellow teeth," *Lancet* (April 21) 1962, P.P. 861.
39. Prusoff, W.H., and Goz, B.: "Potential mechanisms of action of antiviral agents," *Federation proceedings.*, 32: 1678-1683,

- 1973.
40. Quitarelli, G., and Dellove, M.C.: "Mucopolysaccharide histochemistry of rat tooth germs," *Histochemi.*, 3: 195, 1963.
 41. Regna, P.P., Solomons, I.A., Mural, K., Timreck, A.E., Brunings, K.J., and Lazier, W.A.: "The isolation and general properties of terramycin salts," *J. Am. Chem. Soc.*, 73: 4211-4251, 1951.
 42. Silagi, S.: "Metabolism of 1- β -D-arabinofuranosylcytosine in L. cells," *Cancer Res.*, 25: 1446-1453, 1965.
 43. Suga, S., and katagiri, M.: "Mineralization pattern of the hypomineralized rat enamel induced by NaF and SrCl₂ injection," *J. Dent. Res.*, 46: 134-135, (abst.) 1967.
 44. Talley, R.W., and Vaitkevicious, V.K.: "Megaloblastosis produced by a cytosine antagonist 1- β -D-arabinofuranosylcytosine," *Blood.*, 21: 352-361, 1963.
 45. Underwood, G.E.: "Activity of 1- β -D-arabinofuranosylcytosine," *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, 111: 660-664, 1962.
 46. Urist, M.R., and Ibsen, K.H.: "Chemical reactivity of mineralized tissue with oxytetracycline," *Arch. Pathol.*, 76: 484, 1963.
 47. Wallman, I.S., and Hilton, H.B.: "Teeth pigmented by tetracycline," *Lancet* (April 21) 1962, P.P. 827-829.
 48. Wallman, I.S., Hilton, H.B.: "Prematurity, tetracycline, and oxytetracycline in tooth development," *Lancet* (Oct 6) 1962, P.P. 720-721.
 49. Weinberg, E.D.: "The mutual effects on antimicrobial compounds and metallic cations," *Bacteriol. Rev.*, 21: 46-68, 1957.
 50. Weinmann, J.P., and Schour, I.: "The effect of a rachitogenic diet on the dental tissues of the White rat," *Am. J. Path.*, 21: 821-831, 1945.
 51. Wodinsky, I., and Kensler, C.J.: "Activity of cytosine arabinoside in a spectrum of rodent tumors," *Cancer chemotherapy Rept.* 47: 65-68, 1965.
 52. Yen, P.K.J., and Shaw, J.H.: "Effects of repeated oral doses of demethylchlortetracycline on bones and dentin of young Rhesus monkeys," *J. Dent. Res.*, 54: 358-364, 1975.

AN EXPERIMENTAL STUDY ON THE EFFECTS OF CYTOSINE ARABINOSIDE ON THE CALCIFICATION OF INCISOR TEETH IN ALBINO RATS

By Son Joo-Gan, D.D.S.

Director: Cho Jaec, D.D.S., M.S.D., Ph. D.

Dept. of Dentistry, Graduate School, Chosun University

..... > Abstract <

The purpose of this study is to verify the effects of cytosine arabino-side on the caclification of the incisor teeth in albino rats.

For this study, the 36 Albino rats, each weighing 150g or so, were used. After 36 rats were intraperitoneally injected with 20mg/kg of oxytetracycline hydrochloride every seven days, the rats were divided into three groups of 12 each. One group was the control group, and the other two groups as the experimental groups were intraperitoneally injected with cytosine arabinoside every seven days, after the oxytetracycline hydrochloride injections ended in two days. One group was injected with the minimum thereapeutic dosage of 4.2mg/kg (0.6mg/kg: dosage per day) cytosine arabinoside, and the other group was injected with the maximum thereapeutic dosage of 16.1mg/kg (2.3mg/kg: dosage per day). After five weeks, all the rats were sacrificed and their mandibles removed.

The methods of observation were I) that after specimens were fixed in 10% neutral formalin solution, decalcified in the Plank-Rychlo solution, embedded in paraffin, and sectioned, each samples was stained with various type of method which was periodic acid-Schiff, alcian blue, and von kossa. II) that fluorescence bands of deposited oxytetracycline hydrochloride were observed and the calcified amount was measured by using an ocular micrometer under fluorescence microscopy in order to observe the growth line of dental hard tissue after specimens had been ground into 50-60 μ .

Results were as follows:

1. Generally, the formation interval of the tetracycline line becomes narrower in experimental groups than in control group.
2. The rate of tetracycline line formation under fluoesence microscopy showed little difference in the first experimental week, but showed some difference in the second and third experimental weeks.
3. The pyknotic nuclei and vacuole formation were greater in the ameloblast and odontoblast of experimental groups than in the control group.
4. In periodic acid-shiff, alcian blue reactions, the distribution of glycogen and acid mucopoly-saccharide decreased at a lesser rate in the experimental groups. The 2.3mg/kg experimental group was greater.
5. Von kossa reaction was increased slightly in the basal layer of ameloblast and dentin adjacent to the dentin matrix of the control group, and observed slightly in only the dentin matrix of the 2.3mg/kg experimental group.
6. As cytosine arabinoside affects generally the calcification of the tooth, the calcification was more delayed in the experimental groups than in the control group.

寫 眞 附 圖

第一圖：對照群

長圓柱形的 琺瑯芽細胞 및 象牙芽細胞가 規則的인 排列을 하고 있으며, 新生琺瑯基質, 象牙質, 象牙基質을 觀察할 수 있다(400X, H-E 二重染色).

第二圖：kg 當 4.2mg 投與群

紡錘形과 多角形의 象牙芽細胞가 不規則한 排列을 이루고, 象牙芽細胞層에 多數의 毛細血管 出現을 觀察할 수 있다(400X, P. A. S. 反應).

第三圖：kg 當 4.2mg 投與群

不規則한 琺瑯芽細胞의 排列樣相과 空胞形成이 觀察되며 1乃至 2層의 中間細胞層을 觀察할 수 있다(400X, P. A. S. 反應).

第四圖：kg 當 16.1mg 投與群

多數의 空胞形成에 依해 不分明한 象牙芽細胞層을 이루고 있으며, 短立方形으로의 細胞形態 變化를 觀察할 수 있다(400X, Alcian blue 反應).

第五圖：對照群

五層의 比較的 均一한 間隔으로 形成된 fluorescence band를 觀察할 수 있다 (20X, Ground section).

第六圖：kg 當 4.2mg 投與群

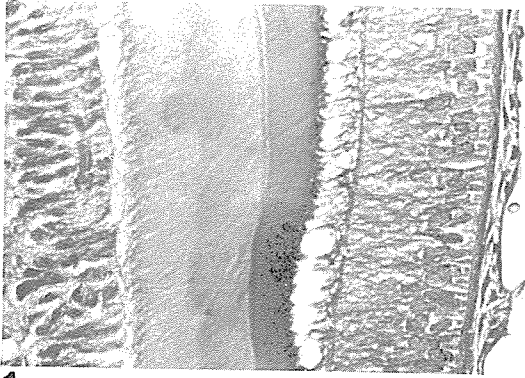
實驗二週부터 fluorescence band의 間隔이 좁아져 있다(20X, Ground section).

第七圖：對照群

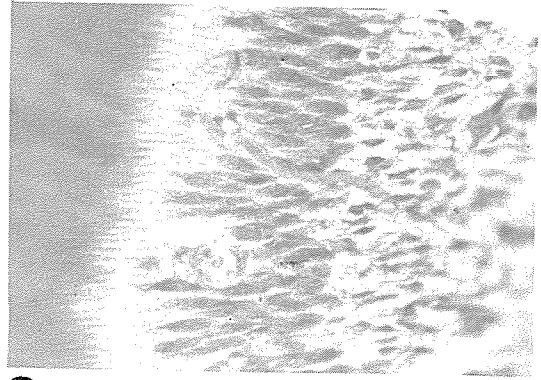
比較的 均一한 間隔으로 形成된 fluorescence band를 觀察할 수 있다(100X, Ground section).

第八圖：kg 當 4.2mg 投與群

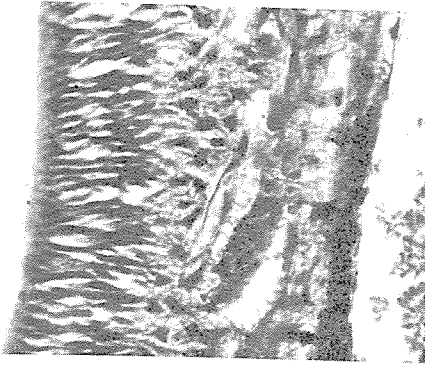
實驗三週부터 fluorescence band의 間隔이 좁아져 있다(100X, Ground section).



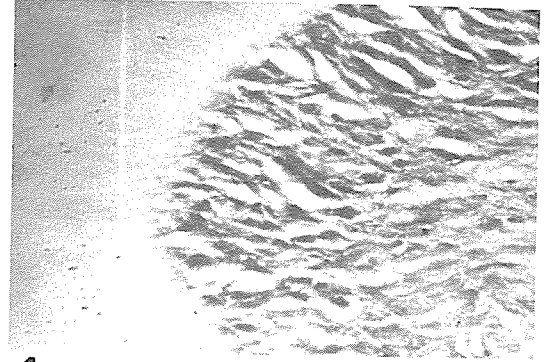
1



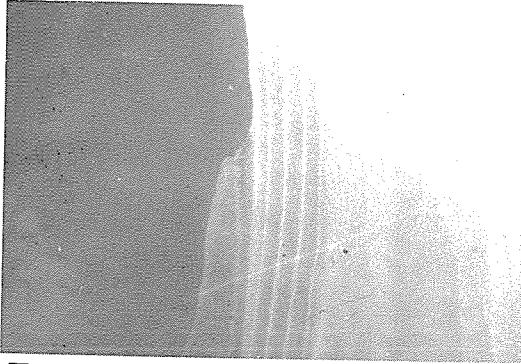
2



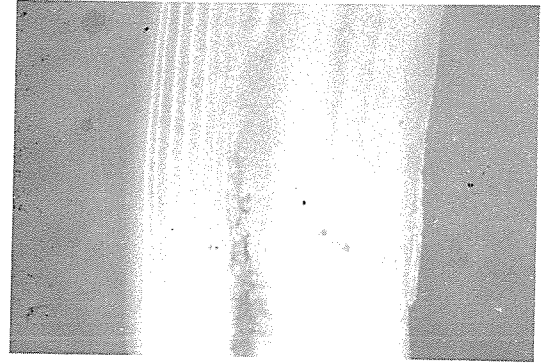
3



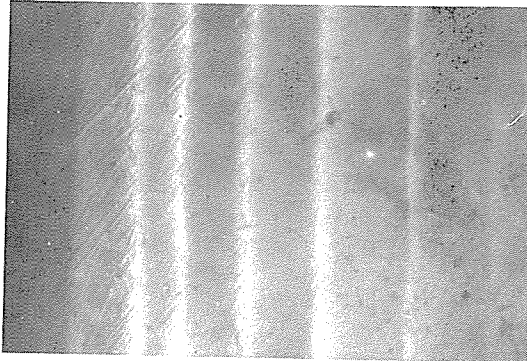
4



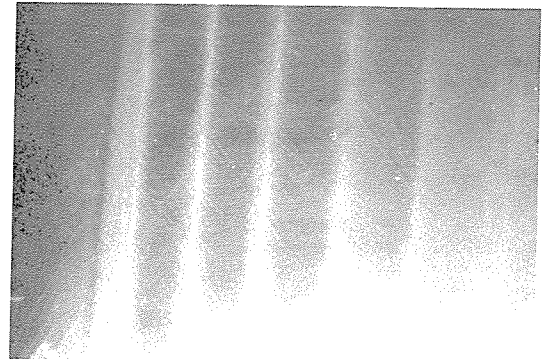
5



6



7



8