

Insulin과 Parotin이 糖尿 白鼠의 耳下腺에 미치는 影響에 關한 微細構造的 研究

慶熙大學校 齒科大學 口腔外科學教室

梁榮桓 · 金麗甲

- 目 次 -

- I. 緒 論
- II. 實驗材料 및 方法
- III. 實驗成績
- IV. 總括 및 考察
- V. 結 論
- 參考文獻
- 英文抄錄
- 寫眞附圖說明
- 寫眞附圖

I. 緒 論

糖尿病은 代謝性 因子 및 血管性 因子에 의한 疾病으로 絶對的 혹은 相對的인 insulin缺乏에 의한 炭水化物 및 蛋白質代謝의 異常을 同伴하는 血糖上昇이 特徵적으로 나타난다.

Banting等(1922)¹⁾이 개의 膵臟에서 insulin을 最初로 抽出한 後 現在까지 糖尿病의 治療에 利用되고 있으며, 이는 膵臟의 Langerhan's islets의 β -cell에서 만들어지고 代謝過程에 對한 調節機能을 가지고 있다.

白鼠에서 alloxan diabetes는 齒髓에 影響을 미치고^{2,3)}, 炎症反應을 增加시키며 齒齦損傷시 治療를 遲延시키며^{4,5,6)}, 白鼠의 炎症性 齒齦部의 膠原質合成을 抑制한다.^{7,8)}

Ray와 Orban(1950)⁹⁾은 糖尿病患者 齒齦의

病理組織學의 研究에서 炎症의 程度가 甚해지고 結締組織의 構造的 變化가 있으며 局所的 刺戟에 對한 組織反應이 增加된다고 報告하였다.

白鼠 唾液腺에 對한 alloxan diabetes와 insulin의 效果에 對한 研究는 活潑하여¹⁰⁻¹⁵⁾ Palla等(1967)¹⁰⁾은 白鼠의 耳下腺과 膵臟의 아밀라제 合成에 對한 比較 研究를, Liu와 Lin(1969)^{11,12)}은 顎下腺과 內分泌腺의 成長發育에 對한 insulin의 役割을, Anderson과 Shapiro(1979)¹³⁾는 白鼠 顎下腺의 成長發育에 있어 alloxan diabetes와 insulin의 效果에 對해 發表하였다. Szymczyk等(1971)¹⁶⁾ 및 Anderson과 Shapiro(1980)¹⁷⁾等은 insulin이 顎下腺의 正常的인 機能을 爲해 必要한 ฮอร์โมน이라 主張하였으나, Palla等(1967)¹⁰⁾, Anderson과 Johnson(1981)¹⁴⁾ 및 Anderson(1983)¹⁵⁾等은 alloxan diabetes時 白鼠 耳下腺의 아밀라제 酵素值가 低下는 보이거나 insulin의 耳下腺의 機能調節에 對해서는 不分明하다고 報告하였다.

Palla等(1968)¹⁸⁾ 및 Soling과 Unger(1972)¹⁹⁾等은 白鼠 耳下腺에서 alloxan diabetes의 影響에 對하여 生化學的 및 電氣泳動 分析法으로, Hand와 Weiss(1984)²⁰⁾ 및 Reuterving等(1987)²¹⁾은 耳下腺 細胞內에 脂肪質 蓄積을 報告하였다.

1886年 Hardin²²⁾이 唾液腺은 內分泌器官의 하나이고, 內分泌系에 依해 活性化되며 內分泌刺戟의 末端器官으로 作用한다는 假說을 提示한 以後 Ogata(1935)²³⁾는 唾液腺內分泌說을 提

案하였고, Ogata(1944)^{24, 25}, Maruyama(1950)²⁶, Ito와 Aonuma(1952)²⁷ 및 Sato(1953)²⁸ 등은 어린소의 唾液腺에서 흘몬樣 物質인 唾液腺 活性化 成分(salivary gland active principles)을 發見하여 “parotin”이라 命名하였다.

Ito等(1954)²⁹ 및 Ito와 Okabe(1955)³⁰ 등은 各各 健康한 男子의 尿와 唾液에서 parotin 을 採取하였고, Fleming(1960)³¹은 正常 白鼠에 parotin 投與時 骨髓腔의 크기와 細胞 數가 增加하고 軟骨細胞의 分化 및 石灰質 沈着이 促進된다 하였고, 白鼠의 辜丸細胞層이 增加됨을 報告하였다.³²

또한 parotin의 投與로 齒牙와 骨 内に P³²의 沈着이 增加된다는 報告가 있고³³, 閉(1967)³⁴은 唾液腺 摘出時 象牙質의 硬度가 減少되나 parotin의 投與로 回復된다 하였으며, Luciano(1986)³⁵는 糖尿 白鼠에서 parotin 投與時 正常群과 비슷한 骨折 治癒狀態를 觀察하였다고 하였다.

그러나 insulin이 耳下腺의 機能調節에 미치는 役割이 不明確한 點과, parotin의 唾液腺에 미치는 影響에 對한 研究가 드물어 이에 著者는 糖尿 白鼠에 insulin 및 唾液腺 活性化 成分인 parotin을 投與한 後 耳下腺의 變化를 光學顯微鏡 및 電子顯微鏡으로 觀察하여 多少의 知見을 얻었기에 이에 報告하는 바이다.

II. 實驗材料 및 方法

1. 實驗材料

實驗動物은 同一한 條件下에 飼育된 体重 120 gm 内外의 Sprague-Dawley系 雄性 白鼠 80頭를 使用하였으며, 對照群에 5頭 및 實驗群에 75頭를 配定하였다.

糖尿測定器具로는 Glucometer II[®] (model 5550, AMES DIVISION)와 Glucostix (日本三共 株式會社)를 使用하였으며, 投與藥物은 40單位 Insulin (東新製藥 株式會社)과 Parotin (日本帝國臟器製藥 株式會社)을 注射하였고 實驗動物에 糖尿를 誘導하기 爲해서는 Alloxan (英

國 D. B. H. Chemical Co.)을 使用하였다.

2. 實驗方法

實驗動物은 對照群, 糖尿群, 糖尿誘發 後 insulin 投與群과 糖尿誘發 後 parotin 投與群 等의 4 群으로 나누었으며, 實驗群은 生理食鹽水에 稀釋한 alloxan monohydrate (185 mg/kg 体重)를 腹腔內로 單回 注射하여 糖尿를 誘發시켰다. 糖尿의 基準은 白鼠의 細靜脈으로부터 血液을 採取하여 Glucometer로 檢定하여 血糖值가 400mg/dl 以上일 때로 定하였다.

糖尿誘發 後 insulin 投與群과 parotin 投與群은 實驗期間 동안 1日 1回 腹部 左右側 皮下에 各各 40單位 Insulin (0.05cc)과 Parotin (5 mg/kg 体重)을 注射한 後 12時間, 1日, 3日, 7日 및 14日째에 2.5% glutaraldehyde로 灌流固定하여 犧牲시킨 後 耳下腺을 切取하였다.

切取된 組織은 2.5% glutaraldehyde 固定液에 3時間동안 前固定 後, phosphate緩衝溶液 (PH 7.4)으로 60分間 水洗하고, 1% osmium tetroxide를 利用하여 4℃에서 90分間 後 固定 하였다. 이어 phosphate緩衝溶液으로 水洗하고 alcohol series에서 脫水 시킨 後, Epon 812에 包埋하여 60℃에서 48時間동안 重合시켰다.

製作된 試料는 超薄切片機 (SORVALL MT 600)로 1 μm의 薄切片을 製作하여 1% toluidine blue로 染色하여 光學顯微鏡으로 檢鏡하였고, 다시 600Å의 超薄切片을 製作하고 uranyl acetate와 lead citrate로 重染色한 後 電子顯微鏡 (HITACHI 600)으로 觀察하였다.

III. 實驗成績

1. 光學顯微鏡의 所見

(1) 對照群

腺細胞는 多樣한 電子密度를 지닌 分泌顆粒을 含有하고 있었으며, 結締組織에 依하여 매우 緻密하게 結合된 腺細胞는 여러개의 葉을 形成하고 그 사이의 葉間組織 內에서 分泌管과

血管等이 觀察되었다.

(2) 糖尿群

12時間：腺細胞間 境界는 不明確하고 細胞質 內에 脂肪小滴으로 보이는 微細한 空泡가 出現 하였으며, 核은 極性이 消失되어 있었고 細胞 質은 全体的으로 淡染되었다. 細胞의 有絲分裂 像이 나타났으며, 毛細血管의 擴張이 觀察되었 다.

1日：腺細胞間 境界가 不明確하였으며 淡染 된 細胞質이 觀察되었다. 細胞質內 空泡가 增 加하였으며 核은 形態가 多樣하고 極性이 消 失되었다. 有絲分裂像이 增加되고 介在管의 細胞 形態도 立方形에서 方錐形으로 變形 되었으며, 毛細血管은 如前히 擴張되어 있었다.

3日：腺細胞間 境界는 多少 明確하게 보였 으며, 淡染된 細胞質은 如前하였다. 細胞質內 空泡가 存在하며 核은 多様な 크기와 形態를 나 타내었고 有絲分裂像을 보였으며 間質組織은 不規則하였다.

7日：細胞質內 空泡가 增加되어 있었으며, 有絲分裂像은 더욱 增加되어 있었다. 核은 極性 이 不規則하고 染色도가 多樣하였으며 導管細 胞도 極性을 消失하고 空胞들이 觀察되었다.

14日：細胞質內 空泡의 數와 크기가 顯著히 增加하였으며 核의 크기, 形態 및 染色度 등이 多樣하였고, 細胞形態가 매우 不規則하였다. 導 管의 形態도 多少 不規則하였고 有絲分裂像은 如前히 觀察되었다.

(3) 糖尿誘發 後 insulin 投與群

12時間：細胞間 境界가 不明確하고, 核은 極 性을 消失하고 細胞質과 함께 淡染되었으며 細胞 質 內에는 空胞들이 觀察되고 有絲分裂像이 나타났다.

1日：腺細胞間 境界는 回復된 像을 보였으 며, 有絲分裂像이 增加되고 核의 極性和 管腔 의 形態가 不規則하였다.

3日：腺細胞間 境界와 核의 極性은 回復像 을 보였고, 核들은 大部分 基底部로 轉位되어 나타났다. 有絲分裂像이 如前히 觀察되고 淡染 된 細胞質 內에는 많은 空胞가 보였다.

7日：腺細胞間 境界는 顯著히 明確해졌으며 核의 極性은 比較的 安定되었고 크기 및 染色度

도 均一하였다. 細胞質은 好鹽基性을 나타내었 고 少數의 空胞만 存在하였다.

14日：腺細胞間 境界와 核의 極性 등이 正常 과 類似하였으며, 細胞質은 더욱 好鹽基性으로 染色되었고 葉間距離와 介在管의 形態도 거의 正常에 가까웠다. 葉間組織에서는 新生 毛細血 管이 觀察되었으며 極少數의 有絲分裂像을 보 였다.

(4) 糖尿誘發 後 parotin 投與群

12時間：腺細胞間 境界가 不明確하였고, 核은 多様な 크기와 形態 및 染色도를 보였으며 極 性을 消失하였다. 細胞質은 淡染되었고 細胞質 內에 空泡가 散在되어 나타났으며 有絲分裂像 이 觀察되었다.

1日：腺細胞間 境界 및 細胞의 外形은 多少 回復像을 보이거나, 核은 不規則하고 有絲分裂像 이 觀察되었으며 介在管의 萎縮 所見이 보였다.

3日：腺細胞間 境界가 不明確하였으며, 核의 形態 및 極性은 不規則하고 有絲分裂像이 增加 되었다. 細胞質은 淡染되고 細胞質內 空泡가 觀察되었다.

7日：腺細胞間 境界는 不明確하고 細胞質內 空泡가 增加되었다. 核은 極性을 消失하고 淡 染되었으며 有絲分裂像을 보였다.

14日：腺細胞間 境界와 核의 極性이 回復되 는 樣相을 보였고 細胞質內 空泡는 減少되었다. 細胞質은 多少 好鹽基性으로 染色되었으며 有 絲分裂像이 減少되고, 介在管의 細胞들은 不規 則하였다.

2. 電子顯微鏡의 所見

(1) 對照群

腺胞의 基底部는 基底膜으로 被蓋되어 있었 고 核은 球狀으로 大部分 基底部에 偏在하여 있 었으며 核內 染色體도 多樣하였다. 粗面內形質 網은 核周圍에 넓게 層板構造를 이루며 平行 하게 排列되어 있었으며 分泌段階에 따라 尖部 側에 不規則하고 多様な 크기의 Golgi器官이 分 布되어 있고, 核 周圍에는 多數의 크기가 多様 한 絲粒體가 觀察되었다. 細胞質 內에는 遊離 리보솜이 散在해 있고 尖部側 細胞質에는 역시

不規則한 形態의 緻密小泡과 크고 작은 球狀의 分泌顆粒이 나타났으며 그 内部에는 電子密度가 多様な 顆粒狀의 内容物이 觀察되었다.

(2) 糖尿群

12時間：隣接細胞끼리는 橋小體(desmosome)로 連結되어 있으나 腺細胞間 境界가 뚜렷하지 않았다. 核은 比較的 球狀 이었으며 粗面內形質網이 매우 不規則하고 槽(cisternae)가 擴張되었고, 稜(cristae)이 消失된 圓形의 絲粒體가 多數 觀察되었으며, 分泌顆粒은 觀察되지 않았다.

1日：隣接細胞끼리는 少數의 橋小體로 連結되어 있으나 腺細胞間 境界가 不明確하였다. 核은 異染色質이 增加되고 形態가 不規則하였으며 粗面內形質網과 Golgi器官이 不規則하게 散在되고 未成熟 分泌顆粒들이 細胞質을 채우고 있었다.

3日：核은 形態가 不規則하고 異染色質이 增加되어 있었으며 隣接細胞間的 境界가 不分明하고 管腔의 形態도 不規則하였다. 膨潤된 絲粒體가 보이고 粗面內形質網과 Golgi器官은 萎縮되어 基底부에 位置하였으며 細胞質은 未成熟 分泌顆粒으로 차 있었고, 管腔內에 分泌되는 樣相은 觀察되지 않았다.

7日：核은 卵圓形 乃至는 球狀을 나타내고 粗面內形質網과 Golgi器官이 甚하게 萎縮된 所見을 보였다. 리소좀 顆粒들이 少數 觀察되었으며, 膨潤된 絲粒體가 多數 보이고 腺細胞間 境界는 不明確하였다.

14日：腺細胞間 境界가 매우 不明確하고, 核은 異染色質이 增加된 不規則한 形態를 보였다. 萎縮된 粗面內形質網과 Golgi器官이 不規則하게 散在하며, 膨潤된 絲粒體는 增加되고 細胞質은 크고 작은 脂肪小滴으로 차있으며 變性된 細胞도 觀察되었다.

(3) 糖尿誘發 後 insulin 投與群

12時間：卵圓形의 核이 보였으며 異染色質이 增加되어 있었다. 粗面內形質網과 Golgi器官은 매우 잘 發達되어 있으나 약간 擴張 되어 있는 所見을 보였으며 腺細胞間 境界는 不分明하였으며 작은 未成熟 分泌顆粒들이 尖部側 細胞質을 채우고 있었다.

1日：核은 卵圓形으로 基底부에 轉位되어 있었으며 粗面內形質網과 Golgi器官도 萎縮되어 基底부에서 보였다. 未成熟 分泌顆粒의 數가 增加되었으며 少數의 리소좀 顆粒들이 觀察되었고 基底膜은 正常的인 所見을 보였다.

3日：核은 如前히 不規則하고 異染色質이 많았으며, 粗面內形質網과 Golgi器官이 不規則하게 發達된 所見을 보였고 그 周圍에서 絲粒體가 觀察되었다. 未成熟 分泌顆粒의 數가 減少되고 電子密度가 낮은 小泡들이 觀察되었다. 腺細胞間 境界는 不分明하였고 細胞間 小管이 不規則하게 排列되어 있었다.

7日：核은 球狀을 나타내었으며 粗面內形質網과 Golgi器官이 잘 發達되어 있었다. 多少 排列이 不規則한 絲粒體와 成熟된 分泌顆粒이 多數 觀察되었다.

14日：核은 많은 成熟된 分泌顆粒들에 밀려 基底부에 偏在하였으며 眞正染色質이 主로 나타났다. 粗面內形質網과 Golgi器官은 이러한 分泌顆粒에 가려져 잘 觀察되지 않았으며 膨潤된 絲粒體가 觀察되었고 腺細胞間 境界는 區分이 明確하였다.

(4) 糖尿誘發 後 parotin 投與群

12時間：核은 比較的 球狀을 나타내었고 細胞間極이 넓어져 있었다. 粗面內形質網과 Golgi器官이 弛緩되고 排列이 不規則 하였으며 絲粒體는 膨潤되어 나타났다.

1日：隣接細胞와는 少數의 橋小體로 連結되어 있고 細胞質內 未成熟 分泌顆粒이 매우 增加되어 있었으며, 核은 이러한 顆粒들에 밀려 基底부로 轉位되어 있었다. 粗面內形質網과 Golgi器官도 基底부에 不規則하게 散在하였고 基底膜은 不分明하였다.

3日：腺細胞間 境界가 不分明하였고 細胞의 形態와 크기가 多様하였으며 粗面內形質網과 Golgi器官이 不規則하게 排列되어 있었고 多數의 絲粒體가 膨潤되어 나타났다. 未成熟 分泌顆粒이 如前히 存在하고 少數의 成熟된 分泌顆粒이 觀察되었다.

7日：核의 形態가 不規則하고 異染色質이 增加되어 있었다. 腺細胞間 境界 및 粗面內形質網은 回復像을 보이거나 如前히 不規則하였으

며 Golgi 器官은 弛緩되어 있고 未成熟 分泌顆粒이 存在하였다.

14日: 隣接細胞와는 橋小體로 連結되어 細胞間小管이 發達되어 있고, 核은 不規則하며 異染色質이 大部分을 차지하였다. 粗面內形質網과 Golgi 器官은 萎縮된 所見을 보이며, 絲粒體는 크기와 數가 增加되어 나타났다.

IV. 總括 및 考察

口腔乾燥症에 對하여 Shafer等(1983)³⁶⁾ 은 糖尿病時의 體液의 喪失에 依한 二次的 現象이라 하였고, Gorlin과 Goldman(1970)³⁷⁾ 은 唾液腺에 脂肪蓄積과 脂肪變性이 惹起되어 唾液分泌가 減少된다고 發表하였다.

糖尿病時 唾液成分의 變化에 關한 報告들은 많으나 唾液腺의 組織學的 變化에 對한 研究는 드물고, 近來에 alloxan 糖尿白鼠의 唾液腺에 對한 組織學的 研究에서 腺細胞內에 脂肪小滴이 나타난다는 報告가 있다.^{14, 20, 21)} Anderson과 Johnson(1981)¹⁴⁾ 은 alloxan 糖尿白鼠에서 Oil red O로 染色한 唾液腺의 腺細胞에 脂肪을 含有한 空泡들이 나타나지만 導管細胞에서는 觀察되지 않는다고 하였다. 이러한 脂肪의 蓄積이 唾液腺 刺戟의 減少에 起因하며³⁸⁾, Hand와 Weiss(1984)²⁰⁾ 은 Streptozotocin으로 糖尿를 誘導한 後 4時間에서 1年동안 耳下腺을 觀察하여 24時間 內에 血糖과 triglyceride level이 增加하고 insulin level이 顯著하게 低下된다고 하였으며, 24時間 後에 細胞質의 基底部에 脂肪小滴이 나타나고 漸次 增加하여 4~5個月 後에 가장 많이 나타나며 脂肪蓄積의 原因으로 細胞의 脂肪攝取增加, 細胞內 脂肪活用度의 減少 및 細胞構成要素의 減性의 增加를 들었다.

또한 Reuterving等(1987)²¹⁾ 은 糖尿誘發 24時間 後 脂肪小滴이 나타난다고 하였고 脂肪蓄積의 量은 血糖値와 關係가 깊다고 하였다. 이것은 糖尿의 代謝性 障礙가 어떠한 細胞內에 脂肪蓄積을 惹起한다는 概念을 뒷받침하며, Anderson(1983)¹⁵⁾ 은 脂肪의 蓄積이 insulin의 投與로 反轉된다 하였다.

著者의 實驗에서 脂肪小滴으로 보이는 空泡들이 糖尿群 12時間 後에서 나타났으며 以後에도 繼續 增加되었다. 이러한 脂肪小滴은 insulin 投與群 7日 後부터 減少되었으나, parotin 投與群에서는 7日 後에도 如前히 細胞質內 空泡가 存在하였고 14日 後에 減少되는 樣相을 보였다.

有絲分裂像에 對해 Leeb(1975)³⁹⁾ 은 ethionine으로 誘導된 耳下腺의 變性에 對한 電子顯微鏡의 研究에서 腺細胞의 損傷에 따른 回復過程이라 하였으며, 이것은 增加된 唾液腺 機能의 特徵이며 이러한 有絲分裂像의 增加는 咀嚼機能의 增加와는 關係가 없다고 報告하였다.

著者의 實驗에서 有絲分裂像은 糖尿誘發後 12時間群에서부터 觀察되어 漸次 增加되어, insulin 投與群의 3日 後에는 減少되어 漸次 줄어들었으나, parotin 投與群에서는 7日 後에도 如前히 多數의 有絲分裂像이 觀察되고 14日 後 減少하였다.

實驗的 糖尿에서 耳下腺과 顎下腺의 萎縮, 自律神經의 變性 및 腺細胞의 壞死 등이 나타나며, 腺細胞가 破壞된 곳에는 結締組織으로 代置된다.^{15, 40)} Reuterving等(1987)²¹⁾ 은 糖尿 30日群에서 唾液腺의 무게가 顯著하게 減少되었으며, 1年이 지난 後에도 變하지 않으며 特히 顎下腺과 舌下腺의 무게는 糖尿白鼠의 體重減少와 比例하여 나타난 反面 耳下腺의 무게는 좀더 減少되나 腺細胞의 크기는 期間이 지남에 따라 增加되었고, 毛細血管 基底膜의 두께도 增加하는 것으로 미루어 糖尿의 程度와 期間이 唾液腺의 組織學的 變化에 重要な 影響을 미치며 毛細血管 基底膜의 肥厚는 透過性과 濾過性에 影響을 미쳐 唾液生成에 支障을 招來한다고 發表하였다.

또한 Murrah等(1985)⁴¹⁾ 은 糖尿患者의 死後 耳下腺을 健康한 對照群과 比較研究하여 糖尿群의 組織에서 導管細胞와 腺細胞의 基底膜에 IgG, albumin, polyvalent immunoglobulin 등이 結合된 非正常的인 基底膜이 觀察되었으며 腎臟과 毛細血管에서는 基底膜의 肥厚가 보였으나, 耳下腺의 導管과 腺胞를 둘러싸는 基底膜의 두께는 糖尿群과 對照群에서 差異가 없었다

고 하였다.

著者の實驗에서 對照群과 實驗群의 腺細胞 및 導管細胞의 基底膜의 두께에 뚜렷한 變化는 認知되지 않았으나 糖尿誘發 後 全 實驗期間에 걸쳐 腺細胞의 境界等이 不明確하였으며, 이는 基底膜의 變性 乃至는 여러가지 血漿 蛋白質의 異常結合에 依한 것이라 생각된다.

糖尿의 初期에는 大部分의 血管 特히 毛細血管의 基底膜이 肥厚되고⁴²⁾ 肥厚해진 毛細血管은 急性 炎症部位로의 白血球의 遊走에 對한 障壁으로 作用하게 되며⁷⁾, 急性 炎症部位의 蛋白質分解가 增加되어 葡萄糖新生이 妨害를 받게 되고, 感染이 容易하게 擴散되어 糖尿로 因한 感染과 循環障壁의 病發症이 나타나며, 膠原質合成, 造骨細胞의 發育 및 新生骨形成 등이 抑制되어 創傷의 治癒를 遲延시킨다.⁹⁾ 흔히 血管腔은 閉鎖되고 損傷받은 部位의 隣接細胞의 物質代謝가 障壁을 받게 되며, 이러한 狀態는 insulin의 投與로도 轉換되어질 수 없다. 糖尿狀態에서 insulin의 缺乏은 葡萄糖을 血液 으로부터 組織細胞內로 運搬하는 輸送經路가 障壁을 받아 血糖値가 增加하게 되며, 따라서 細胞脫水症과 알카리 豫備量의 損失이 同時에 일어나게 된다.⁴³⁾

Liu와 Lin(1969)¹¹⁾, Murakami(1974)⁴⁴⁾ 등은 alloxan糖尿와 insulin이 白鼠 顎下腺에 미치는 影響에 對한 觀察에서 insulin이 直接 혹은 間接적으로 唾液腺의 腺細胞에 미치는 明確한 作用은 밝히지 못하였고, 또 alloxan 糖尿와 insulin이 白鼠 顎下腺의 成長과 發育에 많은 影響을 주지만 唾液腺 腺細胞에서의 組織學的 變化는 對照群과 별 差異가 없었다고 報告하였다.

Anderson(1983)¹⁵⁾은 糖尿白鼠에 insulin을 投與하면 唾液腺과 身體發育의 回復根이 보였고 7日內에 顎下腺의 DNA, RNA 및 全体 蛋白質 등이 正常値를 나타내는 것으로 보아 insulin이 顎下腺의 成長과 機能調節에 重要な 役割을 하며 耳下腺의 實質細胞에서도 緻密한 結晶体가 자주 發見되고 正常的인 耳下腺의 構造와 類似하게 回復되었다고 發表하였다.

著者の 實驗에서 糖尿誘發 後 淡染을 나타냈

던 細胞質이 insulin投與 後 7日에서 好鹽基性을 나타내었고 14日에는 好鹽基性이 더욱 增加되었으며 不明確하던 腺細胞間 境界 역시 回復되는 樣相을 나타냈다. 電子顯微鏡像에서 粗面內形質網과 Golgi 器官이 萎縮 乃至는 不規則하던 것이 insulin投與 後 7日에서부터 잘 發達된 正常에 가까운 所見을 보였으며, 糖尿群 1日 所見에서 未成熟 分泌顆粒들이 細胞質을 채우고 漸次 核內 異染色質이 增加되었으나, insulin投與 後 3日에서 未成熟 分泌顆粒의 數가 減少되고 7日에서 成熟된 分泌顆粒이 나타나며 14日에서 成熟된 分泌顆粒이 大部分을 차지하고 眞正染色質이 많은 것으로 보아 糖尿 白鼠의 耳下腺에 對해서도 insulin이 治癒效果를 갖는 것으로 思料된다.

Parotin은 耳下腺과 顎下腺에서만 分泌되고 舌下腺에서는 거의 分泌되지 않으며 主로 耳下腺에서 分泌된다. 이러한 parotin은 腺細胞에서 唾液과 함께 分泌되어 介在管을 지나 線條管의 上皮細胞들이 이를 吸收한 後 周邊의 淋巴腔을 통해 體循環되어 糞作 作用을 한다.⁴⁵⁾

Weiss와 Reddi(1980)⁴⁶⁾는 糖尿 白鼠 parotin을 投與하면 發育이 促進되고, 退化過程에 있어 parotin을 投與하면 造纖維細胞의 增殖과 骨化가 거의 正常과 가깝다고 하였고, Luciano 등(1986)³⁵⁾은 糖尿 白鼠에서 骨折된 骨의 治癒過程에 미치는 影響에 關한 實驗에서, parotin 投與 後 3日에서는 糖尿群과 類似한 狀態를 보였으나, 7日에서는 糖尿群과 正常群의 中間狀態를, 그리고 30日에서는 正常群에 가까운 發育과 骨化狀態를 나타내는 것을 報告하였다.

또한 Ito(1960)⁴⁷⁾는 parotin이 血清內 칼슘과 磷의 濃度를 낮추며 骨髓腔의 血行을 增加시킨다고 하였다. 이로써 parotin이 硬組織 代謝에 깊이 關與하고 있음을 알 수 있다.

著者の 實驗에서 腺細胞間 境界가 不明確하였으며, 核은 不規則하고 極性の 消失 및 有絲分裂像을 나타냈으며 異染色質의 增加를 보였다. 細胞質內에 脂肪小滴으로 여겨지는 空胞가 나타났으며, 電子顯微鏡像에서 粗面內形質網과 Golgi 器官 等の 細胞內 小器官들이 萎縮 乃至는 變性を 나타내는 등의 所見을 보였으나

parotin 投與 後에도 별로 回復되지 않았다. 特히 糖尿誘發 後 細胞質 內에는 未成熟 分泌顆粒들이 나타났으며 parotin 投與群에서는 14日에서 少數의 成熟된 分泌顆粒이 보이나, 如前히 未成熟分泌顆粒이 存在하는 것으로보아 parotin이 硬組織 代謝에는 適切한 影響을 미치지만 糖尿 白鼠의 耳下腺에 미치는 効果는 적은 것으로 思料된다.

아울러 本 研究에서는 糖尿誘發 後 短期間 동안의 唾液腺 및 腺細胞의 構造的 變化를 觀察 하였으나, 向後에는 長期間에 걸친 研究 및 唾液腺 分泌酵素에 關한 多樣한 分析等이 並行되어야 할 것이다.

V. 結 論

著者は insulin 및 parotin이 糖尿患者의 耳下腺에 미치는 效果를 研究하기 爲하여 白鼠 (Sprague-Dawley系)에 alloxan을 投與하여 糖尿를 誘發시킨 後 各各 insulin과 parotin을 投與하고 12時間, 1日, 3日, 7日 및 14日이 經過한 後 耳下腺을 切取하여 光學顯微鏡 및 電子顯微鏡의 研究에 依해 다음과 같은 結論을 얻었다.

1. 各群 共히 初期에 有絲分裂像을 보였으며, 이러한 像이 糖尿群, parotin 投與群에서는 14日까지 繼續 보였으나 insulin 投與群에서는 漸次 減少되었다.

2. 各群 共히 初期에 腺細胞間 境界가 不明確해지고 核의 極性이 消失되었고 細胞質 內에는 脂肪小滴으로 여겨지는 空泡들이 出現하였으며 insulin 投與群에서 回復되는 所見을 觀察할 수 있었다.

3. 電子顯微鏡像에서 各群 모두 核이 不規則해지고 異染色質이 增加되었으나 回復所見은 역시 insulin 投與群에서 觀察할 수 있었다.

4. 電子顯微鏡像에서 各群 共히 粗面內質網과 Golgi 器官 等の 細胞內 小器官들이 萎縮乃至는 變性을 나타냈으며 回復所見은 insulin 投與群에서 觀察할 수 있었다.

5. 電子顯微鏡像에서 初期에는 各群 共히 分泌顆粒이 나타나지 않았으며 時間이 經過함에 따라 糖尿群에서는 未成熟 分泌顆粒이 增加되었고, insulin 投與群에서 分泌顆粒의 數가 漸次 增加하다가 14日에는 거의 對照群과 類似한 樣相을 보였으나, parotin 投與群에서는 14日에도 未成熟 分泌顆粒이 存在하였다.

6. 病理組織學的 및 電子顯微鏡的 所見에서 糖尿에 對한 insulin의 細胞形態的 治癒效果는 投與 後 7日에서 부터 나타나고 時間이 經過함에 따라 向上되었으나 parotin 投與群에서는 細胞形態的 回復이 微弱한 것으로 나타났다.

REFERENCES

1. Banting, F.G. and Best, C.H.: The internal secretion of the pancreas. *J. Lab. Clin. Med.*, 7:251, 1922.
2. 趙泳弼, 趙載五: Alloxan Diabetes 白鼠 齒髓組織에 關한 組織病理學的 研究. *口腔生物學研究*, 15, 1980.
3. Glickman, I. and Shklar, G.: The effect of systemic disturbances on the pulp of experimental animals. *J. Oral Surg.*, 7: 550, 1954.
4. Bissada, N.F., Schaffer, E.M. and Lazarow, A.: Histopathological changes in the periodontium of alloxan diabetic rats with and without local factors. *Abst. No. 63, IADR Abstracts*, 1965.
5. Bissada, N.F., Schaffer, E.M. and Lazarow, A.: Effect of alloxan diabetes and local irritating factors on the periodontal structures of the rat. *Periodontics*, 4:233, 1966.
6. Glickman, I., Smulow, J.B. and Moreau, I.: Postsurgical periodontal healing in alloxan diabetes. *J. Periodont.*, 38:93, 1967.
7. Brayton, R.G., Stokes, P.E., Schwartz, M.S. and Louria, D.S.: Effect of alcohol and various disease on leukocyte mobilization, phagocytosis and intercellular bacteri

- killing. *New Engl. J. Med.*, 282:123, 1970.
8. Golub, L.M., Garant, P.R. and Ramamurthy, N.S.: Inflammatory changes in gingival collagen in the alloxan diabetic rat. *J. Periodontal Res.*, 12:402, 1977.
 9. Ray, H.G. and Orban, B.: The gingival structures in diabetes mellitus. *J. Periodont.*, 21:98, 1950.
 10. Palla, J.C., Ben Abdeljlil, A. and Desnuelle, P.: Comparative study of the control of amylase biosynthesis in the rat pancreas and parotid gland. *Biochim. Biophys. Acta*, 136:563, 1967.
 11. Liu, F.T.Y. and Lin, H.S.: Role of insulin in body growth and the growth of salivary and endocrine glands in rats. *J. Dent. Res.*, 48:559, 1969a.
 12. Liu, F.T.Y. and Lin, H.S.: Relationship between insulin and growth and development of rat submandibular glands. *Proc. Soc. Exp. Med. Biol.*, 131:175, 1969b.
 13. Anderson, L.C. and Shapiro, B.L.: The effect of alloxan diabetes and insulin in vivo on peroxidase activity in the rat submandibular gland. *Archs. Oral Biol.*, 24:343, 1979.
 14. Anderson, L.C. and Johnson, D.A.: Effects of alloxan diabetes on rat parotid gland and saliva. *Comp. Biochem. Physiol.*, 70B:725, 1981.
 15. Anderson, L.C.: Effects of alloxan diabetes and insulin in vivo on rat parotid gland. *Am. J. Physiol.*, 245:G431, 1983.
 16. Szymczyk, T., Swiatkowska, B. and Jachimowicz, M.: Effect of alloxan diabetes on the content of sialic acids and activity of uridylyltransferases in rat salivary glands. *Acta Biochim. Pol.*, 18:177, 1971.
 17. Anderson, L.C. and Shapiro, B.L.: The effect of alloxan diabetes and insulin on protein synthesis in the rat submandibular gland. *Horm. Metab. Res.*, 12:47, 1980.
 18. Palla, J.C., Ben Abdeljlil, A. and Desnuelle, P.: Action de l'insulin sur la biosynthese de l'amylase et de quelque autres enzymes du pancreas de rat. *Biochim. Biophys. Acta*, 186:25, 1968.
 19. Söling, H.D. and Unger, K.O.: The role of insulin in the regulation of α -amylase synthesis in the rat pancreas. *Europ. J. clin. Invest.*, 2:199, 1972.
 20. Hand, A.R. and Weiss, R.E.: Effects of streptozotocin-induced diabetes on the rat parotid gland. *Lab. Invest.*, 51:429, 1984.
 21. Reuterving, C.-O., Hägg, E., Henriksson, R. and Holm, J.: Salivary glands in long-term alloxan-diabetic rats. A quantitative light and electron-microscopic study. *Acta Path. Microbiol. Immunol. Scand. Sect. A*, 95:131, 1987.
 22. Hardin, A.: Connection between the parotid glands and the generative organs. *Lancet*, 1:374, 1886. cited from 32.
 23. Ogata, T.: Internal secretions of the salivary glands. *Trans. 9th Congr. Far East. Assoc. Trop. Med.*, 2:709, 1935.
 24. Ogata, T.: On the internal secretion of the salivary gland. *Folia Endocrinol. Japan*, 20:9, 1944.
 25. Ogata, T.: Chemical study of salivary hormone. *Folia Endocrinol. Japan*, 20:434, 1944.
 26. Maruyama, M.: Chemical studies on the substance which is contaminated in the parotid gland and influences upon the calcium content of the blood. *J. Biochem.*, 37:1, 1950.
 27. Ito, Y. and Aonuma, S.: Studies on the submaxillary gland. I. Effect of submaxillary gland extracts on serum phosphate and

- calcium. *J. Pharm. Soc. Japan*, 72:1517, 1952.
28. Sato, T.: Effects of parotid gland extract upon calcification of dentine of rabbit. *Gunma J. Med. Sci.*, 2:183, 1953.
 29. Ito, Y., Tsurufuji, S. and Kubota, Y.: Studies on the salivary gland hormone XXV. Effect of parotin on the distribution of radioactive P³² in vivo. *J. Pharm. Soc. Japan*, 74:350, 1954.
 30. Ito, Y. and Okabe, S.: On the occurrence of a parotin-like substance (saliva parotin) in the human saliva. XXVII. Studies on the salivary gland hormones. *Endocrinol. Japan*, 2(3):195, 1955.
 31. Fleming, H.S.: Parotin and growth centers of femurs and incisors in mice. *J. Dent. Res.*, 38:374, 1959.
 32. Fleming, H.S.: The effect of parotin in mice. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 85:313, 1960.
 33. Bixler, D., Webster, R.C. and Muhler, J.C.: The effect of testosterone, thyroxine and cortisone on the salivary glands of the hypophysectomized rat. *J. Dent. Res.*, 36:566, 1957.
 34. 関丙淳：唾液腺 및 Parotin의 白鼠 象牙質의 硬度에 미치는 影響에 관한 實驗的 研究. *首都醫大雜誌*, 4(1): 55, 1967.
 35. Luciano, E., Guimaraes, A., Vizioli, M.R. and Teixeira, D.: Effects of the salivary glands active principle (parotin) on the bone healing of alloxan diabetic rats. *Cell Mol. Biol.*, 32:1, 1986.
 36. Shafer, W.G., Hine, M.K. and Levy, B.M.: A textbook of oral pathology. 4th ed., W.B. Saunders Co., 1983.
 37. Gorlin, R.J. and Goldman, H.M.: Diseases of salivary gland in Thoma's Oral Pathology. Vol. 2, 6th ed., St. Louis, The C.V. Mosby, 1970.
 38. Wilborn, W.H. and Schneyer, C.A.: Ultrastructural changes of rat parotid glands induced by a diet of liquid Metracal. *Z. Zellforsch.*, 103:1, 1970.
 39. Leeb, I.J.: Ethiomine induced degeneration and regeneration in the rat parotid gland: An electron microscope study. *Am. J. Anat.*, 142:29, 1975.
 40. Cutler, L.S., Pinney, H.E., Christian, C. and Russotto, S.P.: Ultrastructural studies of the rat submandibular gland in streptozotocin induced diabetes mellitus. *Virchow Arch. A. Path. Anat. and Histol.*, 382: 301, 1979.
 41. Murrah, V.A., Crosson, J.T. and Sauk, J.J.: Parotid gland basement membrane variation in diabetes mellitus. *J. Oral Pathol.*, 14:236, 1985.
 42. Campbell, M.J.A.: Periodontal disease in the diabetic patient and its treatment. *Austral. Dent. J.*, 12:117, 1967.
 43. Russel, B.G.: Gingival changes in diabetes mellitus I. vascular changes. *Acta Path. Microbiol. Scand.*, 86:161, 1966.
 44. Murakami, H.: Changes in activities of several enzymes for carbohydrate metabolism in the rat submaxillary gland in response to experimental diabetes and insulin treatment. *J. Nihon Univ. Sch. Dent.*, 16:91, 1974.
 45. 緒方知三郎：唾液腺條紋部の構造並びにその機能について. *東京醫事新誌*, 3161: 2861, 1939.
 46. Weiss, R.E. and Reddi, A.H.: Influence of experimental diabetes and insulin on matrix-induce cartilage and bone differentiation. *Am. J. Physiol.*, 238E:200, 1980.
 47. Ito, Y.: Parotin: A salivary gland hormone. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 85:228, 1960.

– ABSTRACT –

AN ULTRASTRUCTURAL STUDY ON THE EFFECTS OF THE INSULIN AND PAROTIN IN PAROTID GLAND OF DIABETIC RATS

Young Hwan Yang, D.D.S., M.S.D., Yeo Gab Kim, D.D.S., M.S.D., Ph.D.

*Department of Oral and Maxillofacial Surgery, College of Dentistry,
Kyung Hee University.*

The purpose of this study was to observe the effects of insulin and parotin in the parotid gland of diabetic rats. For this study, 80 Sprague-Dawley rats were used as the experimental animals. They were divided into four groups as follows: control group, diabetic group, group of insulin administrated after induction of diabetes and group of parotin administrated after induction of diabetes.

After induction of diabetes to experimental animals with alloxan monohydrate, insulin and parotin were prescribed for relevant experimental groups.

The experimental animals were sacrificed at 12 hours, 1, 3, 7 and 14 days after the beginning of the experiment, by means of vascular perfusion with 2.5% Glutaraldehyde. Their parotid glands were removed and observed under light and electron microscope.

The results were as follows,

1. Mitosis were observed in the all experimental groups in early stage, but gradually decreased in insulin administrated group.
2. In all experimental groups, interglandular cell junctions were obscured, loss of polarity were found and vacuoles in cytoplasm were appeared in early stage of experiment. These were recovered gradually in insulin administrated group only.
3. Under the electron microscope, cellular nuclei were irregular and heterochromatin were increased in all experimental groups, but they were also recovered in insulin administrated group only.
4. Under the electron microscope, intercellular organelles, such as rER and Golgi apparatus, were degenerated in all experimental groups, but gradually recovered in insulin administrated group.
5. Under the electron microscope, secretory granules in insulin administrated group were similar to that of control group in terminal stage of experiment, but immature secretory granules were still found in parotin administrated group.
6. In diabetic animals, recuperative effect of insulin to cell structures were observed in 7 days, but that of parotin were insignificant.

EXPLANATION OF FIGURES

- Fig. 1.** Photomicrograph shows acinar cells with cytoplasm and indistinct cellular outline. The nuclei showed morphological variation and loss of polarity. Increased mitotic activities were observed throughout the gland.
(1 day after D.M. induction; Toluidine blue stain, X400)
- Fig. 2.** Photomicrograph shows less indistinct cellular outlines. Increased mitotic activity and loss of nuclear polarity were observed throughout the gland.
(1 day after D.M. induction and Insulin injection; Toluidine blue stain, X200)
- Fig. 3.** Photomicrograph shows slightly recovered cellular outlines. The nuclei were irregular in morphology, size and polarity. The mitotic appearances were observed, too.
(1 day after D.M. induction and Parotin injection; Toluidine blue stain, X200)
- Fig. 4.** Photomicrograph shows increased number and size of the cytoplasmic vacuoles. Various cellular morphology and pleomorphic nuclei were observed, and the mitotic appearance were also observed throughout the gland.
(14 days after D.M. induction; Toluidine blue stain, X400)
- Fig. 5.** Photomicrograph shows almostly recovered cellular outlines and nuclear polarity to normal gland. Basophilic-stained cytoplasm contained a few numbers of cytoplasmic vacuoles, and the mitotic appearances could hardly be observed.
(14 days after D.M. induction and Insulin injection; Toluidine blue stain, X200)
- Fig. 6.** Photomicrograph shows slightly nuclear polarity. The cellular outlines were also recovered, and the mitotic appearances and cytoplasmic vacuoles were more or less decreased.
(14 days after D.M. induction and Parotin injection; Toluidine blue stain, X200)
- Fig. 7.** Electron microscopic view shows round nucleus and, well-developed rough endoplasmic reticulum and Golgi apparatus. Many electron dense secretory granules were observed adjacent to the Golgi apparatus.
(Control group, X9,500)
- Fig. 8.** Electron microscopic view shows relatively round nucleus. The rough endoplasmic reticulum were irregularly arranged and the cisternae was dilated. Many mitochondria were observed with loss of cristae.
(12 hours after D.M. induction, X7,300)
- Fig. 9.** Electron microscopic view shows ovoid nucleus and increased amount of heterochromatin. The rough endoplasmic reticulum and Golgi apparatus were well-developed, but appeared slightly dilated. Small sized immature secretory granules were observed within the apical cytoplasm.
(12 hours after D.M. induction and Insulin injection, X7,300)

- Fig. 10.** Electron microscopic view shows relatively round nucleus. Dilated rough endoplasmic reticulum and Golgi apparatus and mitochondria swelling were observed within the cytoplasm.
(12 hours after D.M. induction and Parotin injection, X9,500)
- Fig. 11.** Electron microscopic view shows irregularly shaped nucleus. The amount of heterochromatin was increased and immature secretory granules were observed within the cytoplasm.
(1 day after D.M. induction, X15,700)
- Fig. 12.** Electron microscopic view shows basally placed ovoid nucleus. The rough endoplasmic reticulum and Golgi apparatus were also atrophied and basally placed. The number of immature secretory granules were increased.
(1 day after D.M. induction and Insulin injection, X7,300)
- Fig. 13.** Electron microscopic view shows basally displaced nucleus. The rough endoplasmic reticulum and Golgi apparatus were also irregularly arranged within the basal cytoplasm. The number of immature secretory granules was highly increased.
(1 day after D.M. induction and Parotin injection, X6,200)
- Fig. 14.** Electron microscopic view shows irregular nucleus and increased amount of heterochromatin. The rough endoplasmic reticulum was atrophied and placed within the basal cytoplasm. The cytoplasm was filled with immature secretory granules.
(3 days after D.M. induction, X7,300)
- Fig. 14.** Electron microscopic view shows still irregular nucleus and large amount of heterochromatin. Immature secretory granules were slightly decreased, and small vesicles with low electron density were observed.
(3 days after D.M. induction and Insulin injection, X9,500)
- Fig. 16.** Electron microscopic view shows the variety of cellular size and morphology. Many mitochondria were swollen and the rough endoplasmic reticulum was irregularly arranged. Many immature secretory granules were still observed within the cytoplasm.
(3 days after D.M. induction and Parotin injection, X9,500)
- Fig. 17.** Electron microscopic view shows severely atrophied rough endoplasmic reticulum and Golgi apparatus. The mitochondria were observed to be swollen, and the intercellular junctions were indistinct.
(7 days after D.M. induction, X7,300)
- Fig. 18.** Electron microscopic view shows round nucleus and increased euchromatin. The rough endoplasmic reticulum and Golgi apparatus were well-developed, but the arrangement was still or less irregular. Many mature secretory granules were observed.
(7 days after D.M. induction and Insulin injection, X9,500)
- Fig. 19.** Electron microscopic view shows irregularly shaped nucleus and increased amount of heterochromatin. The rough endoplasmic reticulum was appeared somewhat recovered but still irregularly arranged, and the immature secretory granules were also observed

within the cytoplasm.

(7 days after D.M. induction and Parotin injection, X7,300)

Fig. 20. Electron microscopic view shows still irregular nucleus and increased amount of heterochromatin. The rough endoplasmic reticulum and Golgi apparatus were irregularly scattered within the cytoplasm. Various sized lipid droplets were observed in the cytoplasm.

(14 days after D.M. induction, X7,300)

Fig. 21. Electron microscopic view shows basally displaced nucleus by many mature secretory granules. Mitochondrial swelling was also observed within the cytoplasm.

(14 days after D.M. induction and Insulin injection, X6,000)

Fig. 22. Electron microscopic view shows still large amount of heterochromatin in the nucleus. The mitochondrias were increased in number and size. Small numbers of mature secretory granules were observed within the cytoplasm.

(14 days after D.M. induction and Parotin injection, X8,000)

D : Desmosome

LD : Lipid Droplet

HC : Heterochromatin

LG : Lysosomal Granule

G : Golgi Apparatus

M : Mitochondria

ICC : Intercellular Canaliculi

N : Nucleus

ICS : Intercellular Space

rER : rough Endoplasmic Reticulum

ISG : Immature Secretory Granule

SG : Secretory Granule

L : Lumen