

치주인대세포의 부착과 전개에 관한 형태학적 관찰

경북대학교 치과대학 치주과학 교실

이진미 · 서조영 · 박준봉

I. 서 론

치주염은 치주낭의 형성과 치조골의 파괴, 그리고 섬유성 부착의 소실이 특징인 염증성 질환으로 중증으로 진행되면, 치주인대의 파괴는 물론 치조골의 흡수와 치아동요가 심화되고 궁극적으로 치아상실을 초래하게 된다. 그러므로 치주치료의 목적은 조직에 확산된 염증 및 치주낭 제거와 소실된 지지조직의 재생을 도모하는 것이다¹⁾. 이를 위해서는 결손부조직이 재생되어야 하고, 활택된 치근면에 적절한 세포가 이주하여 부착되고 분화 증식하여 신생백악질과 골조직이 형성됨과 동시에 교원질 섬유와의 합성이 수반되어야 할 것이다.

치주질환으로 인해 파괴된 조직을 회복하기 위하여 다양한 치료법들이 연구되어져 치주질환의 주 원인인자인 치태 및 치석을 제거하는 치석제거술, 치근면을 활택하여 괴사된 백악질과 내독소를 제거하는 치근면 활택술 뿐만 아니라 필요한 경우 치주판막술 및 골이식술 등의 외과적 처치를 병행하여 치주낭 제거는 물론 치조골 재생을 유도하기도 하였다.

그러나 다양한 외과적 처치후 치유양상을 조직학적으로 연구한 결과 대체적으로 결합조직에 의한 재부착 형태가 아닌 긴 접합상피로 치유됨이 관찰되었다²⁻⁵⁾. 이러한 치유양상에 대해 Stahl⁶⁾은 치료 후에 새로운 결합조직이 재부착을 방해하는 주요인은 상피의 근단방향으로의 급속한 성장과 치은연하치태의 재형성 때문이라고 주장하였다.

치주치료 후의 이상적인 치유형태는 시술후 치유 초기단계에서 결손부 주위의 치주인대로부터 유래된

세포가 치근면에 먼저 이주증식하며, 이들 세포내의 교원섬유와 기질이 합성되는 동시에 신생백악질 형성으로 치면과 재생골에 교원 섬유가 합입되는 신부착이 형성되는 것이라고 Narayanan 등⁶⁾이 정의를 내리면서 이를 위해서는 치주치료후 상피의 하방증식과 치태축적을 차단해야 한다고 하였다.

선학들의 연구⁷⁻¹²⁾를 검토해본 결과 치주 수술후 4가지 다른 형태의 세포 즉 치은상피세포, 치은결체조직세포, 치조골세포, 치주인대세포 등이 치유부에 이주해 올 수 있으며 이들 세포중 치주인대조직에서 유래된 세포가 파괴된 치주조직 재생에 주된 역할을 하는 것으로 알려져 있다.

이와같이 치주조직 재생에 중요한 역할을 하는 세포의 부착과 전개에 관한 연구로서는 Ferny-though와 page 등¹³⁾이 치주조직 재생을 위해서는 치유초기 반응의 하나로, 시술부에서 결체조직세포의 부착과 연속적인 전개가 필수적이라고 하였고, Somerman 등¹⁴⁾은 치주조직 재생에 요구되는 초기 과정 중의 하나는 창상 부위에 섬유아세포가 부착하고 전개하는 것이라고 하였다. 또한 Ben-ze've 등¹⁶⁾은 세포의 모양, 부착과 표현 유전자물질의 성질과의 관계에서 세포내 단백질합성이 일어나기 위해서는 먼저 세포가 기질에 부착되어야 하고, 세포의 전개는 mRNA 합성을 자극한다고 하여 세포의 부착전개가 그 생존과 증식에 필수적이라고 보고하였다.

Madden과 Arem¹⁷⁾도 창상치유 과정에서 주된 역할을 하는 섬유아세포가 창상부위로 이주하기 위해서는 고형 또는 반고형의 기질이 요구되며, 이러한 기질과 부착성 접촉이 선행되어야 함을 거듭 주장

하였다.

한편, 세포의 부착과 전개에 관한 형태학적 연구로서는, Taler¹⁶⁾가 유리표면상에 세포가 부착하고 전개하는 과정에서 나타나는 형태학적 변화를 광학 위상차현미경적 소견을 통해 보고한 이래, Rajaraman¹⁷⁾, Witkowski와 Brighton²⁰⁾은 사람이 이배체성 세포를 이용한 시험관적 실험에서 주사전자현미경을 이용하여 부착, 전개 과정을 보고한 바 있다. Van Der Schueren²¹⁾은 사람의 이배체성 피부섬유아세포를 유리 혹은 플라스틱 기질에 부착시켜 형태학적 및 생화학적 성상을 연구하였고, Garant와 Cho 등²²⁾은 횡중격섬유내의 치주인대 섬유아세포의 배열 및 극성에 대해 보고한 바 있다. 또한 Follettdhk Goldman²³⁾이 유리기질에 부착된 BHK21/C13 섬유아세포의 미세융모의 발생을 관찰하였고, Erickson과 Trinkaus²⁴⁾는 BHK21 세포의 주사전자현미경적 연구에서 세포막의 저장장소로서 미세융모와 소기관의 발생을 보고한 바 있다.

이상의 선학들의 연구를 검토해본 결과 여러가지 세포의 형태학적 연구가 보고되었으나, 치주인대세포의 부착 및 전개에 대한 형태학적 연구는 부족하다고 사료되어 본 저자는 치주치료 후의 초기 치유 과정에서 주된 역할을 한다고 밝혀진 치주인대세포를 동일 조건의 기질인 유리표면상에 부착시켜 시간경과에 따른 세포의 부착과 전개에 관한 형태학적 양상을 관찰해 본 결과 다소의 지견을 얻었기에 보고하는 바이다.

II. 재료 및 방법

1. 치주인대세포의 배양

교정치료를 목적으로 경북대학교 병원내 내원한 환자의 발거될 치아를 조직채취 해당부위로 하고 초기배양과정에서 야기될 수 있는 세균감염을 예방하고자 통상의 배양액에 포함되는 항생제 용량의 2배인 200Unit/ml penicillin(근화제약, 한국)과 200 µg/ml streptomycin(동아제약, 한국)이 첨가된 Dulbecco's Modified Eagle Medium(Gibco사, 미국)을 생검배지로 준비하였다.

조직처리 과정에서 치은조직 함입을 배제하고 치주인대조직만 채취하기 위하여 제일소구치부위에 내사면 절개를 가한 후 치경부 1/3 부위를 소파한

후 제일 소구치를 발거하여 생검배지에 침수시켰다. 발거한 치아를 생검배지로 3회 세척한 후 치근중간 1/3부위의 치주인대를 큐렛으로 채취하여 세절한 다음 35mm 배양접시에 고르게 분포시킨 후 10% Fetal Bovine Serum(Gibco사, 미국)과 100Unit/ml peicillin, 100µg/ml streptomycin이 포함된 DMEM을 넣고 37°C, 100% 습도, 5% CO₂ 공기혼합배양기(Sanyotk, 일본)에서 배양하였다. 치주인대 세포가 조직세편으로부터 증식되어 단층밀생이 형성된 후 0.05% trypsin/0.02% Ethylenediamine-tetraacetic acid를 이용하여 세포를 분리시킨 후 100mm 세포 배양접시를 이용하여 계대배양하였다.

세포부착 및 전개양상을 관찰하기 위해서 동일 조건의 기질인 2장의 유리(두께 1mm, 넓이 1×1cm²)를 포함되는 35mm 배양접시에 치주인대세포 1ml당 5×10³개를 접종하고 CO₂ 배양기에서 배양하였다.

2. 세포의 부착과 전개양상의 관찰

1) 위상차현미경 관찰

세포배양 개시후 10분, 30분, 90분, 6시간, 12시간, 24시간의 시간간격에 따라 각각의 배양접시내의 배지를 완전히 제거한 다음, 인산완충 생리식염수로 세척하고 중성완충 포르말린 용액으로 2시간 고정하였다. 그후 Hematoxylin과 Eosin(이하 H & E로 표기) 염색을 시행한 다음 위상차현미경(Model Axioskop 20, Carl Zeiss사, 서독)으로 관찰하였다.

2) 주사전자현미경 관찰

세포배양 개시후 10분, 30분, 90분, 6시간, 12시간, 24시간이 지난 후 0.1M 인산완충 생리식염수로 세척한 다음 2.5% glutaraldehyde(0.1M 인산완충액, pH 7.4)에서 고정하였다. 이어서 0.1M 인산완충 생리식염수로 세척하고 1% OsO₄(0.1M 인산완충액, pH 7.4)로 후고정한 다음 0.1M 인산완충 생리식염수로 세척하고 2% tannic acid(0.1M 인산완충액, pH 7.4)로 처리하였다. 그후 일련의 에틸알콜로 탈수하여 임계점전조기로 건조시키고 ion coater를 이용하여 Gold로 피복시킨 후 주사전자현미경(Model S-2300, Hitachi사, 일본)으로 관찰하였다.

III. 연구성적

1. 위상차현미경 관찰조건

10분간 배양한 치주인대세포는 작고 원형으로 관찰되었으며 핵은 세포의 중심부에 위치하였다(Fig. 1A 참조). 배양 30분 후 세포의 형태는 역시 원형이었고 세포질은 핵을 중심으로 하여 균일하게 확장된 양상을 보여주었다(Fig. 2A 참조). 90분 후에 세포형태는 배양 30분의 형태와 유사하였고 세포질 확산정도는 더욱 증가된 양상을 보였으며 이때도 역시 핵은 세포의 중심부에 위치하였다(Fig. 3A 참조). 6시간 배양된 경우 핵은 다소 타원형으로 보였고 세포외형도 전반적으로 신장된 양상을 보였다(Fig. 4A 참조). 배양 12시간 후의 세포외형은 양극이 둔탁한 말단부를 지니고 길게 늘어난 양상이 관찰되었다.(Fig. 5A 참조) 배양 24시간 후에는 세포 양극에서 길고 가느다란 돌기들이 관찰되었고, 세포의 외형은 길게 늘어난 선상 또는 방추상의 양상을 보였으며 다소 신장된 양상의 핵이 세포의 한쪽극에 치우쳐 있었다.(Fig. 6A 참조)

2. 주사전자현미경 관찰조건

10분간 배양한 후의 치주인대 세포는 대체적으로 구형을 나타내었으며 기질층의 세포질은 박판엽상으로 다소 확장되어 기질에 부착개시한 양상이 보였다.(Fig. 1B, C 참조) 배양 30분 후 전체적인 세포외형은 등근 구상을 보였고 판모양의 세포돌기인 박판상돌기(lamellipodia)에서 부분적으로 세사상돌기(filopodia)를 내어 부착하는 양상이 관찰되었고 대부분의 세포표면은 소기포로 덮여있었으며 미세융모도 관찰되었다(Fig. 2B, C 참조). 세포배양 개시후 90분 경과후 부착양상은 세포질이 방사선상으로 확장되어 세포가 기질상에 더욱 편평하게 부착되어 있었고 전개된 세포 변연부와 그 주위에는 미세융모가 관찰되지 않았으며 미전개된 세포중심부에는 미세융모와 소기포로 덮여있었다(Fig. 3B, C 참조) 6시간 배양된 세포는 신장된 외형을 보이면서 전개양상의 변화가 관찰되었는데, 세포의 양쪽극에서 박판상돌기가 관찰되었다. 이 박판상돌기에서 세사상돌기들이 분지되는 양상을 부여주었으며, 세사상돌기의 말단부는 팽대되어 기질에 부착한 양상을 보였다(Fig. 4B, C 참조). 12시간 배양한 후의 치

주인대세포는 뚜렷한 극성화를 보이면서 길게 신장된 양상을 나타내었고, 전개된 세포의 말단부는 비교적 평활한 양상을 보였으며, 미세융모는 거의 관찰되지 않았다. 세포 중앙부에서 떨어진 세사상돌기들이 관찰되었으나 전체적으로 감소된 양상을 보였다.(Fig. 5B, C 참조) 세포배양 24시간이 경과된 경우에는 세포외형이 길게 신장된 방추상 형태를 나타내었고 세포의 한쪽극에서는 끝이 넓게 퍼진 박판상돌기가 관찰되었으며, 다른 한쪽에서는 가늘고 긴 돌기가 관찰되었다.(Fig. 6B, C 참조)

IV. 총괄 및 고찰

치주치료의 목적은 질한진행의 중지, 파괴된 치조골의 회복 및 치아와 치조골간의 재부착에 있다. 이러한 치료목적을 달성하기 위하여 증중으로 진행된 치주질환인 경우, 임상에서 시행되는 통상적인 방법은 이환된 조직을 제거하고 치근면의 상태를 수정하여 결체조직부착의 재형성을 도모하는 것이다. 그러나 이러한 시술로 얻어지는 치유양상을 조직학적으로 연구한 결과 조직의 신부착이나 재부착의 경우에 따라 골유착이나 치근흡수는 물론 긴 상피 접합의 형태로 나타나기도 하였다. Melcher⁹⁾를 비롯해 Polson과 Caton¹¹⁾, Isidor 등¹²⁾은 치주인대에서 유래된 치주인대 세포가 치근면과 접촉하면 신생백악질이 형성되며 가해지는 기능적 요구에 적절한 섬유배열을 가진 치주인대의 재생이 야기되어 바람직한 치유형태를 얻을 수 있다고 보고하였다.

Madden과 Arem¹⁷⁾은 창상치유 과정은 세포의 증식과 이주, 교원질 합성으로 이루어지며, 세포가 창상부위로 이주하기 위해서는 먼저 고형 또는 반고형 기질과의 접촉이 선행되어야 함을 주장하였다. 또한 Ben-ze've 등^{15, 16)}은 세포의 부착과 전개가 배아의 발달과정, 암종의 침입과정, 창상치유과정 및 조직재생 과정 등 중요한 생물학적 진행과정에 영향을 미칠 수 있다고 주장하였다. 또한 세포의 모양, 부착과 표현 유전자 생성물 성질과의 상호연관성에 관한 연구에서 현탁액 배양에서 세포내 단백질합성과 새로운 mRNA 생성은 강하게 억제되고 세포주기의 G1 phase에서 정체된다고 하였으며, 세포질내의 mRNA의 일정한 양을 유지하기 위해 연장된 반감기를 가진다고 하였다. 따라서 세포단백 합성이 일

어나기 위해서는 기질에 세포가 부착되어야 하고, 초기부착이 이루어지면 세포 자신의 전개에 필요한 단백질을 합성하며 세포의 전개는 세포자체의 기능을 수행할 수 있도록 mRNA 합성을 촉진한다고 하여 세포의 부착전개가 생존과 증식에 필수적이라고 보고하였다. 이와같이 치유과정에 있어 세포 부착 및 전개가 중요한 과정이라는 보고들을 근거로 하여 본 실험에서 치주인대세포의 부착 전개과정을 형태학적으로 관찰하였다.

기질상에서 세포 개개의 부착 전개과정을 형태학적으로 관찰하기 위하여 세포수는 2×10^5 의 단분산(5×10^3 cells/cm²)이 접종되어야 한다는 Malik 등²⁰의 보고를 근거로 선정하였고 시간 경과에 따른 세포 부착 실험은 세포부착이 배양 5분 후부터 시작되어 6시간까지 계속되며 그 후에는 세포 분열이 시작된다는 Klebe²¹의 주장을 근거로 10분, 30분, 90분, 6시간, 12시간, 24시간동안 관찰하였다.

한편, 세포의 부착과 전개에 관한 형태학적 연구에서 Taylor¹⁸가 유리표면상에 세포가 부착하고 전개하는 과정에서 나타나는 형태학적 변화를 광학위상차현미경으로 관찰하여 세포 전개를 3단계로 분류하였는데, I 단계는 세포가 유리표면상에 돌기를 내지 않은 상태에서 부착된 구의 형태 혹은 불규칙한 세포의 모양을 한 상태이고, II 단계는 세포가 다소 편평하며 부착된 돌기를 가지나, 핵은 불분명하게 보이는 편평된 세포질 덩어리를 가지는 단계라고 하였고, 관찰되는 핵이 보다 많이 편평해져서 분명하게 보일 때까지 전개를 일제라고 하였다. 이후 Rajaraman 등¹⁹은 사람의 이배체성 세포를 이용한 실험에서 24시간에서 주시전자현미경으로 관찰하여 세포부착과 전개의 과정을 4단계로 구분하였는데 기질에 세포가 접촉점을 이루며 부착한 단계, 세사상 돌기까지 성장으로 전이하는 단계, 세포질의 모양 구조 변화 단계, 세포중심부의 평평화단계 등이며 이는 전개의 과정과 단계이자 세포의 크기 성장이라고 하였다.

한편, Revel과 Wolken²²은 세포가 배양접시 자체에 부착되는 것이 아니라, 배양피막에서 흡착된 단백질 피막에 부착된 것이라 하였고, 이 단백질 피막이 세포 부착과 정성적 세포양상에 중요한 역할을 한다고 주장한 바 있다.

Malik 등²⁰도 기질상에 세포 부착과정을 통한 정

태를 띄우는 세포가 혈청단백을 먼저 흡착하여 기질과 접촉한 후, 부착 및 전개양상을 나타낸다고 하였고 형태학적으로 관찰되어지는 모든 세포가 각각 동일한 양상, 동일한 비율로 전개되는 것은 아니라고 하였다. 이에 본 실험에서는 그때 시간간격에서 가장 전형적인 세포형태를 관찰하였는 바 초기에 세포는 둥근 구형태를 보이며, 가는 부착돌기에 의해 기질에 부착한 상태이며, 세포질이 방사선상으로 확장되면서 세포중심부 편평화가 관찰되어 Rajaraman 등¹⁹이나 Malik 등²⁰이 서술한 바와 유사한 양상을 보였다.

Garant와 Cho²³는 치주인대 섬유아세포의 전방극에서 통상적인 배양세포에서 발견되는 유도편과 구조적, 기능적으로 유사한 짧은 세포진돌기 혹은 엄죽(lobopodia)이 형성되고 기질과 부착성 접촉을 함으로써 수축하여 세포가 전방으로 이동한다고 하였으며 이때 핵은 세포의 전방극에 위치한다고 하였다.

세포배양 6시간이 경과한 후 세포는 극성을 나타내면서 전개양상의 변화가 관찰되었고 12시간 배양후 전개 신장된 세포의 양상을 나타내었다. 세포배양 개시후 24시간이 경과된 후 신장된 양상의 핵이 세포의 한쪽극에 치우쳐 있었으며, 세포외형은 방추상의 세포형태를 보여주었다. 세포 한쪽극에서 핵이 넓게 퍼진 방관상돌기가 관찰되었으며, 다른 한쪽에서는 가늘고 긴 돌기가 관찰되었다. 이는 Garant와 Cho²³가 서술한 바와 유사한 핵의 위치를 나타내었고 또한 치주인대세포의 극성을 나타내는 것으로 사료된다.

Witkowski와 Brighton²⁴은 사람의 이배체성 세포 MRC-5를 유리기질상에 부착시켜 세포 기저부에서 발생하는 부착돌기들에 대해 관찰하였는데, 이는 세포질 전개의 유도선이 되고 초기에 세포질이 균등하게 전개되었을 때 부착돌기가 세포주위로 규칙적으로 분포되어지며, 세포가 원형에서 타각형으로 모양의 변화가 있을때 세포의 각진부위에만 주로 발견된다고 하였으며 특히, 섬유아세포의 경우 부착돌기는 세포 말단부에 제한되어 있으며, 측면에는 대개 존재하지 않는다고 하였다. 돌기의 끝부분은 팽대되어 존재하며, 이는 부착돌기의 신장에 관여하는 것으로 추측된다고 하였다.

본 연구에서는 치주인대세포는 초기에 세포외형을 따라 세포기저부의 방관상돌기에서 세사상돌기를

내어 부착하는 양상이 관찰되었으며 이러한 돌기의 말단부는 팽대된 상태로 기질에 부착하였고 시간이 경과하여 전개가 진행됨에 따라 세포 양쪽 말단부에서는 부착돌기가 관찰되었으나 세포 측면에는 부착돌기의 존재양상이 미미한 것으로 관찰되었는 바 이는 Witkowski와 Brighton²⁰⁾의 관찰결과로 미루어 볼 때 치주인대세포가 가지는 여러 성상 중 섬유아양세포와 유사한 형태를 가지는 것으로 사료된다.

Follett와 Goldman²³⁾은 BHK21/C13 섬유아세포의 성장과 전개과정 동안에 미세용모 발생에 관한 연구에서 미세용모는 여분의 세포막을 제공하는 기능을 가지며 등글거나 혹은 분열중이거나 부분적으로 전개된 세포에서는 관찰되지나 완전히 전개된 세포에서는 관찰되지 않는다고 하였다. 또한 Erickson과 Trinkaus²⁴⁾는 세포가 등근상태에서 편평한 상태로 전개됨에 따라 세포 표면적 증가가 관찰되고, 전개가 진행됨에 따라 주름(fold), 소기포(bleb)와 미세용모가 사라진다고 하였으며 먼저 변연부에서부터 편평해지고 점차적으로 그 주위로 진행되는데 이는 전체표면 평활해질 때까지 진행된다고 하였다. Witkowski와 Brighton²⁰⁾도 세포 표면상의 기포(bubble)와 미세용모(Microvilli)에 대해서 연구하였는데, 기포와 미세용모의 기능은 다르다고 하였다. 기포는 표면물질의 저장창고이며, 세포 표면적이 넓어지면 사라진다고 하였고, 미세용모는 배지 흡착을 위한 큰 표면을 제공하고, 이는 완전히 전개된 세포에서도 존재할 수 있으며, 세포 대사활동과도 연관된다고 하여 Follett와 Goldman²³⁾, Erickson과 Trinkaus²⁴⁾의 보고와는 다소 다른 견해를 보였다.

본 연구에서 나타난 결과로는 세포가 부착된 직후 세포표면에서 수많은 소기포와 미세용모가 관찰되었다. 90분 경과 후 세포질이 방사선상으로 확장됨에 따라 전개된 세포의 변연부에서는 소기포와 미세용모가 관찰되지 않았으나 전개되지 않은 세포의 중심부에는 다수의 미세용모가 관찰되는 것으로 나타났다 시간이 경과하여 전개가 진행됨에 따라 세포 표면의 소기포와 미세용모는 점차 사라지고 전체표면이 평활하게 되는 것으로 나타나 이는 Follett와 Goldman²³⁾, Erickson과 Trinkaus²⁴⁾가 서술한 바와 유사한 양상을 보였다.

형태학적으로 관찰한 본 실험에서는 치주인대세포가 섬유아양세포의 성상을 보이는 것으로 나타났

으나 치주인대세포의 성상을 생화학적으로 연구한 여러선학들의 연구^{22,28,33)}에서 조골세포 혹은 치은섬유아세포와 조골세포 양자의 성상이 공히 존재하는 세포로 보고하고 있으므로 이러한 다능성을 가진 치주인대세포의 성상규명은 형태학적 및 생화학적 연구들이 병행되어야 하며 본 결과를 토대로 하여 세포표면상의 미세용모, 소기포 및 부착돌기 이외 세포의 내부구조를 투과전자현미경을 사용하여 관찰함으로써 내부 구조물들의 기능에 대한 이해를 도모하고 세포이동과의 연관성을 고려하여 치주치후 치유과정에서 치주인대세포의 부착에 관한 보다 많은 연구들이 지속되어야 할 것으로 사료된다.

V. 요 약

치주조직의 초기치유과정에서 가장 중요한 역할을 하는 치주인대세포의 부착과 전개에 대한 형태학적 관찰을 위하여 교정치료 목적으로 발거된 치아로부터 치주인대조직을 채취하여 초기배양하고 동일한 양(5×10^3 ml)의 치주인대 세포를, 2장의 유리가 포함된 35mm 배양접시에 접종한 후, CO₂ 배양기에서 배양하여 세포배양개시후 10분, 30분, 90분, 6시간, 12시간, 24시간의 시간간격에 따라서 광학위상차현미경과 주사전자현미경을 이용하여 세포부착과 전개양상을 관찰한 결과 다음과 같은 결과를 얻었다.

10분간 배양한 세포는 구형을 나타내었으며, 기질층의 세포질이 박판상으로 확장되어 기질에 부착개시한 양상이 보였다. 배양 30분 후 판모양의 세포돌기인 박판상돌기에서 세사상돌기를 내어 부착하는 양상이 관찰되었고, 세포표면은 소기포와 미세용모로 덮여 있었다. 90분간 배양한 세포에서 핵은 세포의 중심부에 위치하였고 세포질이 방사선상으로 확장되어 부착된 양상을 보였으며, 미전개된 세포중심부에는 미세용모와 소기포로 덮여져 있었다. 배양 6시간 후 세포는 신장된 양상을 보였고 타원형의 핵이 관찰되었다. 세포의 양극에서 박판상돌기가 관찰되었고 다시 세사상돌기가 분지되는 양상을 보였는데 이 돌기의 말단부는 팽대되어 기질에 부착하였다. 12시간 배양한 후의 치주인대 세포는 뚜렷한 극성화를 보이면서 길게 신장된 양상을 나타내었다. 배양 24시간 경과후 신장된 양상의 핵이 세포의 한쪽극에 치우쳐 있었으며, 세포의형은 길게

신장된 방추상의 형태가 관찰되었다.

참고 문헌

1. 박준봉 외 : 치주과학, 지영문화사, 1992. pp. 6-59.
2. 서조영, 최제용, 유현모, 박준봉, 조준승 : 치주인대세포와 치은섬유아세포의 성장에 관한 비교, 대한 구강생물학회지, 15 : 14-28, 1991.
3. Stahl, S. S. : Repair potential of the soft tissue root interface, J. Periodontol., 48 : 545-552, 1977.
4. Caton, J. G. and Zander, H. A. : The attachment between tooth and gingival tissues after periodic root planing and soft tissue curettage., J. Periodontol., 50 : 462-466, 1979.
5. Polson, A. M. : The root surface and regeneration : Present therapeutic limitations and future biologic potentials, J. Clin. Periodontol., 13 : 995-999, 1986.
6. Narayanan, A. S., Nakae, H. and Miki, Y. : Biology of the gingiva : The connective tissue in health and disease and molecular aspects of periodontal regeneration and reattachment. Recent Advances in Clinical Periodontology. Elsevier science Publishers., pp. 51-61, 1988.
7. Bowers, G. M., Schallhorn, R. G., and Mellonig, J. T. : Histologic evaluation of new attachment in human intrabony defects. A literature review, J. Periodontol., 53 : 509-514, 1972.
8. Melcher, A. H. : Repair of wounds in the periodontium of the rats. Influence of periodontal ligament on osteogenesis, Arch. Oral Biol., 15 : 1183-1204, 1970.
9. Melcher, A. H. : On the repair potential of periodontal tissues, J. Periodontol., 47 : 256-260, 1976.
10. Bokyoo, G. A., Melcher, A. H. and Brunette, D. M. : Formation of new periodontal ligament by periodontal ligament cells implanted in vivo after culture in vitro, J. Periodontal Res., 16 : 73-88, 1981.
11. Polson, A. M. and Carton, J. : Factors influencing periodontal repair and regeneration, J. Periodontol., 53 : 617-625, 1982.
12. Isidor, F., Karring, T., Nyman, S. and Lindhe, J. : The significance of coronal growth of periodontal ligament tissue for new attachment formation, J. Clin. Periodontol., 13 : 145-150, 1986.
13. Fernyhough, W. and Page, R. C. : Attachment and growth and synthesis by human gingival fibroblasts on normal and diseased tooth roots. J. Periodontol., 54 : 133-140, 1983.
14. Somerman, M. J., Foster, R. A., Progebin, K. and Wynn, R. L. : Effects of minocycline on fibroblast attachment and spreading, J. Periodontal Res., 23 : 54-159, 1988.
15. Averil, Ben-Ze've., Farmer, R. S. and Penman, S. : Protein synthesis requires cell surface contact while nuclear events respond to cell shape in anchorage dependent fibroblast, Cell 21 : 365-372, 1980.
16. Averil, Ben-Ze've : Cell shape, the complex cellular networks, and Gene expression : cytoskeletal protein genes as a model system, Cell and muscle motility, 6 : 23-52, 1985.
17. Madden, J. W., and Arem, A. J. : Wound healing : Biologic and clinical features, Surg. Res., 20 : 93, 1976.
18. Tayler, A. C. : Attachment and spreading of cells in culture, Exp. cell Res., 8 : 154-173, 1961.
19. Rajaraman, R., Rounds, D. E., Yen, S. P. S. and Rembaum, A. : A scanning electron microscope study of cell adhesion and spreading in vitro, Exp. cell. Res., 88 : 327-339, 1974.
20. Witkowski, J. A. and Brighton, W. D. : Stages of spreading of human diploid cells on glass surfaces., Exp. Cell Res., 68 : 372-380, 1971.
21. Van Der Schueren, B., Cassiman, J. J. and Van Den Berghe, H. : Out growth of human fibroblast aggregates on a substratum triggers a wide variety of morphogenetic properties in the cells,

- J. Cell Sci., 26 : 101–117, 1977.
22. Garant, P. R. and Cho, M. I. : Cytoplasmic polarization of periodontal ligament fibroblasts, J. Periodontal Res., 14 : 95–106, 1979.
 23. Follett, E. A. C. and Goldman, R. D. : The occurrence of microvilli during spreading and growth of BHK21/C13 fibroblasts, Exp. Cell Res., 59 : 124–136, 1970.
 24. Erickson, C. A., and Trinkaus, J. P. : Microvilli and blebs as sources of reserve surface membrane during cell spreading, Exp. cell Res., 99 : 375–384, 1976.
 25. Malik, M. A., Puleo, D. A., Bizios, R. and Doremus, R. H. : Osteoblasts on hydroxyapatite, alumina and bone surfaces in vitro : morphology during the first 2hr attachment, Biomaterials, 13(2) : 123–128, 1992.
 26. Klebe, R. J. : Isolation of a collagen-dependent cell attachment factor, Nature, 250 : 248–251, 1974.
 27. Revel, J. P. and Wolken, K. : Electron microscope investigation of the underside of cells in culture, Exp. Cell Res., 78 : 1–14, 1973.
 28. Revel, J. P., Hoch, R. and Ho, D. : Adhesion of culture cells to their substratum, Exp. Cell Res., 84 : 207–218, 1974.
 29. Somerman, M. J., Archer, S. Y., Imm, G. R. and Foster, R. A. : A comparative study of human periodontal ligament cells and gingival fibroblasts in vitro J. Dent. Res., 67 : 66–70, 1988.
 30. Maeder, C. L., Carnes, D. L. and Graves, D. T. : Alkaline phosphatase and osteocalcin levels in cells from periodontal explants, J. Dent. Res., 67 : 232 Abst. No. 958, 1988.
 31. Piche, J. E. Carnes, D. L. and Graves, D. T. : Characterization of non-fibroblast cell population derived from human periodontal ligament, J. Dent. Res., 66 : 356, Abst. No. 1998, 1987.
 32. Piche, J. E. and Graves, D. T. : Growth and biochemical characteristics of cells derived from human periodontium, J. Dent. Res., 67 : 243, Abst. No. 1044, 1988.
 33. Piche, J. E. Carnes, Jr., D. L. and Graves, D. T. : Initial characterization of cells derived from human periodontia, J. Dent. Res., 68 : 761–767, 1989.

EXPLANATION OF FIGURES

- Fig. 1A On the 10 min. after plating, Periodontal ligament cell (PDL cell) shows rounded appearance. (H & E, $\times 400$)
- Fig. 1B On the 10 min. after plating, spherical cell is showed. (Bars— : $10\mu\text{m}$)
- Fig. 1C Higher magnification view of Fig. 1B
Spherical cell is attached to plane glass substratum by basal cytoplasmic extension. (Bars— : $10\mu\text{m}$)
- Fig. 2A On the 0.5hrs. after plating, PDL cell also shows rounded appearance. Extension of cytoplasm & central nucleus is evident. (H & E, $\times 400$)
- Fig. 2B On the 0.5hrs. after plating, PDL cell near the attachment side forms extensive lamellipodia and sends out filopodia towards the substratum. (Bars— : $10\mu\text{m}$)
- Fig. 2C Higher magnification view of Fig. 2B
The surface is highly convoluted and is mostly covered with blebs. An occasional microvillus is evident. (Bars— : $10\mu\text{m}$)
- Fig. 3A On the 1.5hrs. after plating, PDL cell shows radial extension of cytoplasm. Central nucleus is more evident. (H & E, $\times 400$)
- Fig. 3B On the 1.5hrs. after plating, PDL cell shows flat and radial extension of cytoplasm. Note the smooth surfaces of the spreading cells, especially its marginal regions. (Bars— : $10\mu\text{m}$)
- Fig. 3C Higher magnification view of central region of the Fig. 3B A few microvilli remained on the unspread central region of the cell. (Bars— : $5\mu\text{m}$)
- Fig. 4A On the 6hrs. after plating, PDL cell shows elongated outline. Nucleus of the cell is revealed as remarkably elongated shape. (H & E, $\times 400$)
- Fig. 4B On the 6hrs. after plating, PDL cell shows elongated outline. (Bars— : $10\mu\text{m}$)
- Fig. 4C Higher magnification view of Fig. 4B
Elongated cell is attached to plane glass substratum by lamellipodium, some of which branch and all of which terminate in bulbous enlargements. (Bars— : $10\mu\text{m}$)
- Fig. 5A On the 12hrs. after plating, PDL cell shows marked elongation. (H & E, $\times 400$)
- Fig. 5B On the 12hrs. after plating, PDL cell shows cylindrical fibroblast-like appearance. Two lamellipodia can be seen around the both ends of cells. (Bars— : $10\mu\text{m}$)
- Fig. 5C Higher magnification view of Fig. 5B
Note the smooth surfaces of spreading cells, especially of the margin of the lamellipodium. (Bars— : $10\mu\text{m}$)
- Fig. 6A On the 24hrs. after plating, PDL cell shows linear or spindle shapes. Elongated nucleus is slanted toward one side of the cell. (H & E, $\times 400$)
- Fig. 6B On the 24hrs. after plating, PDL cell shows more stretched spindle shapes. Long cytoplasmic processes extended out from both ends of the cell to the substrate. (Bars— : $10\mu\text{m}$)
- Fig. 6C Higher magnification view of Fig. 6B (Bars— : $10\mu\text{m}$)

논문사진부도 ①

논문사진부도 ②

논문사진부도 ③

THE MORPHOLOGICAL OBSERVATION OF HUMAN PERIODONTAL LIGAMENT CELLS ATTACHMENT AND SPREADING ON THE SURFACE OF SLIDE GLASS

Jin - Mi Lee, Jo - Young Suh, Joon - Bong Park

Dept. of Periodontology, School of Dentistry, Kyungpook National University

One of the important initial events required for periodontal regeneration is the attachment and subsequent spreading of periodontal ligament cells on the root surface. The purposes of this study is to investigate the attachment and spreading pattern of human periodontal ligament cell on the surface of glass slides.

After establishment of a cell line of the primary cell culture from the periodontal ligament of 1st premolar teeth which were extracted for the purpose of orthodontic treatment, author dispersed the cells at 5×10^3 cells/ml into the each 35mm culture petri-dish containing 2 glass slides.

To observe the morphological changes of the cells which attached to the surfaces of glasses at every designed time schedule, author used the inverted phase contrast microscope and scanning electron microscope. During the whole experiment culture condition was at 37°C , 100% Humidity, 5% CO_2 gas incubator.

The following results were obtained.

Periodontal ligament cells showed spherical outline and started to attach to glass surface by basal cytoplasmic extension after 10min in culture.

After 30min in culture, periodontal ligament cells were attached to glass surface by well - developed filopodia which protruded from the lamellipodia.

The cell surface is covered with bubble-like structures and occasional microvillus can be seen with difficulty among these structures.

After 1.5hr in culture, periodontal ligament cells showed radially well-spread cytoplasm and the nucleus was centered on its cytoplasm. Unspread central region of the cell was covered with numerous microvilli.

The change of cell attachment and spreading pattern was manifest at 6hr in culture. At this time, periodontal ligament cell showed elongated outline and an oval-shaped nucleus.

After 12hr in culture, periodontal ligament cells showed more stretched fibroblast-like appearance with polarity. Two long lamellipodia can be seen around the both terminal ends of cells.

After 24hr in culture, periodontal ligament cells showed spindle shapes and an oval-shaped nucleus was slanted toward one side of the cell.