

백서의 실험적 치아 이동시 교원질 발현에 관한 면역조직화학적 연구

김 상 철¹⁾ · 전 인 섭²⁾

견인력에 의한 치아 이동시 전반적인 치주 조직의 변화를 관찰하고 특히 제1형 교원질의 발현 정도 및 분포의 변화를 알아보고자, Sprague-Dawley계 백서 21마리를 대상으로 대조군(3마리)과 실험군(18마리)으로 나누었으며, 실험군은 양 중절치 사이에 견인력(75g)을 가한 후 12시간, 1일, 4일, 7일, 14일, 28일째에 각각 3마리씩 희생시켜, 시간에 따른 제1형 교원질의 발현과 조직학적 변화를 면역조직화학적 및 조직병리학적으로 관찰한 바 다음과 같은 결과를 얻었다.

견인력을 가한 후 28일째까지, 견인측의 치주인대 섬유는 신장되어 있었고, 압박측의 치주인대 섬유는 압축되어 있었으며 치주인대 섬유의 배열은 완전히 회복되지 않았다.

대조군에서의 제1형 교원질 발현은 구강 상피, 전상아질, 치수와 치주인대에서 경미하였으나, 치조골에 의한 조골세포, 치근단의 무세포성 백악질, 조백악세포와 악간융합 부위에서 약양성의 발현을 보였다.

실험군에서의 제1형 교원질 발현은, 무세포성 백악질에서 치아 이동 1일째에 중등도, 7일째부터 강양성의 발현을 보였으며, 정중 구개 융합 부위에서는 치아 이동 1일째에 중등도, 14일째부터 강양성 발현을 보였다. 치주인대에서는 치아 이동 4일째에서 견인측이 압박측보다 제1형 교원질의 발현이 많아져 7일째에서 최고조에 달하다가 14일째부터는 측간의 차이가 없었다. 골조직에서는 조골세포가 붙어 있는 골 주변부에서 강하게 반응을 보여 대조군과 구별되었으며 특히 7일째 이후에 많은 것으로 관찰되어 골개조 현상과 관련하여 주목되었다.

이러한 관찰로 교정적 치아 이동 후 골재형성 과정은 조직 형성 세포의 분화와 이들 세포에서 형성되는 제1형 교원질과 밀접한 관계가 있음을 확인할 수 있었다.

(주요 단어: 견인력, 치아 이동, 골재형성, 교원질 발현)

I. 서 론

치아에 견인력을 가하면 치조골과 치주인대를 비롯한 모든 치주조직에 변화가 초래되어, 압박측에서는 파골세포의 활성 증가로 골의 흡수가 일어나고, 견인측에서는 조골세포의 활성 증가에 따른 골 첨가가

일어나는 골개조에 의해 치아 이동이 이루어진다¹⁻¹⁰⁾.

Sandstedt¹⁾가 처음으로 개를 대상으로 이러한 골개조 과정에서의 조직적 소견을 연구하기 시작한 이래, Storey등을 비롯한 다수의 선학들¹¹⁻¹⁴⁾은 치아 이동시의 골 흡수와 침착의 기전을 보다 잘 이해하기 위하여 견인력의 크기와 그 적용 기간을 포함한 여러 견인력의 요소들을 달리 하여 그에 따른 치아 이동 양상의 차이를 연구하였다.

또한 Davidovitch등¹⁵⁾과 Norton등¹⁶⁾은 골개조 반응을 생화학적 그리고 세포 생물학적으로 규명하기 시작하였다. 그후 치아 이동에 따른 여러 호르몬의 분

¹⁾ 원광대학교 치과대학 교정학 교실, 교수

²⁾ 원광대학교 치과대학 교정학 교실, 박사과정

"본 연구는 원광대학교 부설 의약자원연구소의 연구비로 이루어졌음"

포와 농도의 변화에 관해 많은 연구가 진행되어 세포 활성화와 조직 변화는 치주조직 내 특정 성분의 변화와 밀접한 관계가 있다고 밝혀졌으며⁸⁾, 치아 주위 조직의 병적 과정과 재생 기전을 이해하기 위해 collagen, fibronectin, bone sialoprotein, osteopontin 및 osteonectin과 같은 세포외 기질 성분을 분석하는데 관심이 집중되고 있다¹⁷⁻¹⁹⁾.

골은 광화된 특수 결합조직으로 유기질의 대부분은 교원질로 구성되어 있는데 특히 제1형 교원질이 대부분을 차지하며, 나머지는 osteocalcin, osteonectin 등의 비교원성 단백질로 구성되어 있어 이들의 합성 촉진은 골 기질의 증가를 의미한다고 할 수 있다²⁰⁾.

교원질은 처음에 조골세포로부터 비교적 긴 분자 구조이며 pro-peptides를 함유한 전구 교원질(pro-collagen)의 형태로 형성된다. 전구 교원질의 양쪽 끝에 pro α chains라고 알려진 peptides가 존재하며 제1형 교원질에서는 pro α_1 (I)과 pro α_2 (I)의 두 종류가 있는 것으로 알려져 있다. pro α_1 (I)은 분자량이 약 2000Da이며 globular aminoterminal domain과 central collagen domain, short globular domain 등 3개의 다른 구조적 영역으로 구성되어 있다¹⁹⁾. mRNA로부터 전사된 전구 교원질의 pro α -chains는 O_2 , Fe^{++} , ascorbic acid, α -Ketoglutarate등에 의하여 hydroxylated되어 완전한 3차원적 구조를 가지게 되면 신속하게 세포외로 방출된다. 세포외로 방출된 전구 교원질은 procollagen aminoprotease(amino peptides)와 procollagen carboxy-protease(carboxy propeptides)등에 의하여 교원질로 전환되며 이후 교원질은 섬유질을 이루어 골 기질을 형성하게 된다²⁰⁾.

교원질은 인체 조직에서 가장 풍부하게 존재하는 단백질로서 현재까지 10가지 이상의 유형이 알려져 있다. 인체 내에 존재하는 1형 교원질은 피부, 골 및 인대에 가장 풍부하며 골 형성에 중요한 역할을 하고 건, 상아질, 근막, 동맥, 자궁 등에도 널리 분포하며 골에서는 제1형 교원질이 대부분을 차지하고 있다¹⁹⁾.

다양한 유형의 교원질과 그 밖의 세포간 기질의 존재 형태에 따라 여러 종류의 결합 조직들이 각각의 특징을 갖게 된다. 그 중 치아기를 포함하는 조직에는 제1형, 제3형 및 제4형 교원질이 모두 발견되고 있고, 피부에서는 태생기의 진피에서 제3형 교원질이 풍부하게 존재하다가 출생 이후에는 제1형 교원질의 비율이 훨씬 높게 유지된다고 한다²¹⁻²⁴⁾.

제4형 교원질은 기저막에서만 특이하게 발견되는

형태로 주로 기저막 구조를 유지하는 역할을 하는 것으로 보이며²⁵⁾, 치아 형성에 중요한 역할을 하는 치유 두 및 치낭에서는 제1형 및 제3형 교원질이 나타난다. 제3형 교원질은 배아의 신생 조직에서 특징적으로 나타나는 교원질로서²⁶⁾ 치아 및 주위 조직에서는 비교적 적은 양이 분포하며, 간엽세포가 분화됨에 따라 그 양이 줄어드는 것으로 알려져 있다.

최근에 조직의 발생, 분화 및 재생과 관련된 교원질 분포에 대한 연구가 활발히 이루어지고 있어 Rao 등²⁷⁾은 치주조직 전반에 걸친 제1형 교원질의 분포에 대해, Wang 등²⁸⁾은 제3형 교원질의 분포에 대해 면역조직화학적으로 연구하였다. Narayanan 등²⁹⁾은 치은에 존재하는 교원질 중에서 제1형과 제3형 교원질이 전체의 98%를 차지한다고 하였고, Cho 등³⁰⁾은 치은 상피 직하방의 고유층과 혈관 주위의 결합조직에 제3형 교원질이 특히 많이 분포되어 있다고 보고하였다. Butler 등³¹⁾과 Shuttleworth 등³²⁾은 생화학적 연구를 통해 치주인대는 제1형 교원질을 풍부하게 함유하고 있음을 보고하였고, Rao 등²⁶⁾, Wang 등²⁸⁾, Tung 등³³⁾, Takita 등³⁴⁾ 그리고 Huang 등³⁵⁾은 면역조직화학적 연구에서 교원 섬유질의 주된 구성이 제1형과 제3형 교원질임을 확인하였으며, 이들의 분포에 대해 구체적으로 보고하였다.

염증 반응 및 치유 과정으로 여겨지고 있는 치아 이동 및 그에 따른 치주조직 변화에서도 제1형 교원질의 역할이 클 것으로 사료되지만 골 조직에 대한 교원질의 영향에 대한 현재까지의 연구는 시험관내에서의 친화성에 대한 것이 대부분이며 생체에서 치아 이동시의 제1형 교원질의 역할에 대한 연구는 거의 이루어지지 않았다. 한편, 골과 마찬가지로 석회화된 조직인 백악질과 그 주위 조직인 치주인대, 치조골에서도 이들 당단백질이 분포되고 중요한 역할을 할 것으로 예측되지만 아직 이에 대한 정보는 미약하며, 특히 면역조직화학적 연구는 거의 이루어진바 없었다.

따라서 백서의 교정적 치아 이동시 발육 중인 백악질, 치주인대 및 치조골에서 제1형 교원질 분포와 그 위치를 확인하여 당단백질의 농도와 위치를 분석함은 견인력에 대한 치주조직의 재생 기전을 이해하는데 의의 있는 것으로 사료된다.

이에, 견인력에 의한 치아 이동시 치주 조직의 조직 변화를 알아보고 제1형 교원질의 시간 경과에 따른 발현 정도 및 분포 변화를 알아보고자 백서 전치에 견인력을 가한 후 조직 절편을 제작해 제1형 교원질에 대한 면역조직화학적 염색을 시행하여 다소의

지견을 얻었기에 보고하는 바이다.

II. 연구 재료 및 방법

1) 연구 재료

체중 200g 내외의 생후 5주령인 Sprague-Dawley 계 백서 21마리를 연형 사료로 사육하였다. 이들을 대조군(3마리)과 실험군(18마리)으로 나누었으며, 실험군은 견인력(75g)을 가한 후 12시간, 1일, 4일, 7일, 14일, 28일이 경과한 후 각각 3마리씩 희생시켰다.

2) 연구 방법

가) 견인 스프링 장착

견인력에 의한 백서 상악 전치의 원심 이동은 helical spring (0.014" stainless steel)을 이용하였으며, tension gauge를 사용하여 발휘되는 견인력의 크기(75g)를 확인하였다. 염산 케타민(Ketalar; 유한양행)을 백서 둔부에 주입하여(체중 kg당 5-10mg) 마취한 후, 상악 절치의 순면과 원심면에 1/4 round bur로 홈을 형성하여 helical spring의 유지에 도움이 되게 하였다. 상악 양 중절치의 원심면에 0.009" 절찰선을 이용하여 helical spring을 부착시키고, 하악 절치는 상악 절치의 마모와 장치의 손상을 피하기 위하여 삭제하였다.

나) 광학현미경 표본 제작 및 조직학적 염색

장치를 제거한 후 희생시켜, 전치가 포함된 상악을 전두면 방향으로 4등분하여 전치의 치경부위, 치근 중앙 부위, 치근단 부위 및 구개 부위의 조직피를 만들어, 2일간 10% 중성 포르마린 용액에 고정하고,

10% EDTA로 10일간 탈회한 후, 통법에 의하여 탈수하고 파라핀에 포매했으며, 4-6 μ m의 박절 표본을 poly-L-lysine을 도포한 슬라이드에 부착하여 표본을 제작하였다. 교원섬유 및 치주인대 섬유의 형태 관찰과 치주조직의 변화를 알아보기 위해 H & E, Masson's trichrome, periodic acid schiff(PAS)염색을 시행하여 검경하였다.

다) 면역조직화학적 염색

LSAB(labelled streptavidine biotin, Dako Co., Denmark)를 이용하였는데 일차 항체는 제1형 교원질(monoclonal, Monosan Co, Netherlands)을 이용하였고 발색은 Aminoethyl Carbazole(AEC, Zymed Co, USA)를 이용하였다. 파라핀 절편을 탈파라핀화 및 수화시킨 후 일차 항체인 제1형 교원질을 1:50으로 희석해 60분간, 이차 항체(anti-mouse IgG)를 30분간 부란시켰다. streptavidine alkaline phosphatase로 30분간 처리한 후 AEC로 발색시킨 후 Harrison hematoxylin으로 대조 염색하여 Permount로 도포한 후 검경하였다. 음성 대조군은 일차 항체 대신 생리식염수를 사용한 후 동일한 방법으로 염색하였다. 염색의 판정은, 전혀 염색되지 않거나 세포의 표면에 염색된 흔적이 약하게 관찰된 경우를 음성으로, 세포내 붉은 반점으로 명확히 염색되는 경우를 양성으로 구분하여 치주조직 내의 염색 정도를 음성, 경미, 약양성, 중등도, 강양성의 5단계로 나누었다.

III. 연구 성적

1) 대조군에서의 치주조직 변화 (Table 1)

양 중절치 사이의 치간 유두는 5-6층의 편평상피로

Table 1. Histopathologic Findings of Control and Experimental Groups

(-: negative, \pm : rare, +: mild, ++: moderate, +++: severe)

	tearing of PDL	hyalinization of PDL	bone apposition	bone resorption	inflammatory cell infiltration		vascular capillary dilatation proliferation	
	tension side	pressure side	tension side	pressure side	tension side	pressure side	tension side	pressure side
control	\pm	\pm	-	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm
12 hrs	+	\pm	-	\pm	\pm	+	\pm	\pm
1 day	++	\pm	-	+	+	+	+	\pm
4 days	+	\pm	\pm	+	\pm	\pm	++	+
7 days	\pm	\pm	+	++	\pm	\pm	+	++
14 days	\pm	\pm	++	+++	\pm	\pm	+	\pm
28 days	\pm	\pm	+++	-	-	-	-	-

Table 2-1. The Expression of type I collagen in Periodontium of Control and Experimental Groups
(-: negative, ±: rare, +: mild, ++: moderate, +++: severe)

	gingiva	dentin	cementum	pulp	cementoblast	odontoblast
control	±	±	+	±	+	±
12 hrs	±	±	+	±	++	±
1 day	±	±	++	±	++	+
4 days	±	±	++	±	++	+
7 days	±	±	++	±	+++	±
14 days	±	±	+++	±	+++	±
28 days	±	±	+++	±	+++	±

Table 2-2. The Expression of type I collagen in Periodontium of Control and Experimental Groups
(-: negative, ±: rare, +: mild, ++: moderate, +++: severe)

	osteoblast in alv.bone		matrix of alv.bone		periodontal ligament		intermax. suture
	pressure	tension	pressure	tension	pressure	tension	
control	+	+	±	±	±	±	+
12 hrs	+	+	±	±	±	±	+
1 day	+	+	±	±	+	+	++
4 days	+	++	±	+	+	++	++
7 days	+	+++	+	++	++	+++	++
14 days	++	+++	±	±	++	++	+++
28 days	+	+	±	±	+	+	+++

뒹혀 있었으며 치주인대 섬유도 정상적으로 배열되어 있었다. 치주인대 간격은 근원심으로 양측이 같았고 치조골면에서는 규칙적인 조골세포가 배열되어 있었으며 파골세포에 의한 골흡수는 관찰되지 않았다.

2) 실험군에서의 치주조직 변화 (Table 1)

가) 견인측

실험 12시간째에서, 치주인대 섬유의 배열이 다소 무질서함이 관찰되었고 혈액 유출과 함께 미약한 염증세포 침윤이 관찰되었으나 신생골 형성 및 골 흡수는 거의 없었다.

1일째에는, 치주인대 간격이 약간 넓어지면서 치주인대의 무질서함이 12시간째에 비해 증가되었으며 염증세포 침윤도 증가하였으나 골흡수 및 골형성은 미약하였다. 4일째에는, 1일째에 비해 치주인대 간격이 더욱 넓어지면서 조골세포에 의한 신생골 형성이

출현하였으나 치주인대 혈관의 충혈 및 혈액 유출이 염증세포 침윤과 함께 잔존하였다.

7일째에는, 치주인대 주위의 염증세포 침윤 및 충혈은 4일째와 큰 차이 없었으나 치주인대의 파열은 4일째보다 감소되었고 조골세포의 활성화는 증가하여 신생골 형성이 4일째에 비해 약간 증가하였다.

14일째에는, 치주인대 간격의 확대가 유지되면서 치주인대 섬유의 배열은 거의 정상에 가까워졌고, 염증세포 침윤은 거의 없었으나 치조정 부위의 혈관 충혈은 여전히 있었으며 조골세포의 활성화가 왕성하여 신생골 형성이 증가되었고 28일째에도 14일째와 유사한 소견을 보였으나 골의 성숙도가 높아졌다.

나) 압박측

견인력을 가한지 12시간째에서는 치주인대 간격이 약간 감소되었고 치조골의 흡수가 약간 관찰되었으며 염증세포 침윤은 경미하였고 초자질화대도 관찰



Fig. 1. Microphotogram of mild expression of type I collagen at intermaxillary suture in control tissue. (Immunostain of type I collagen, X40)

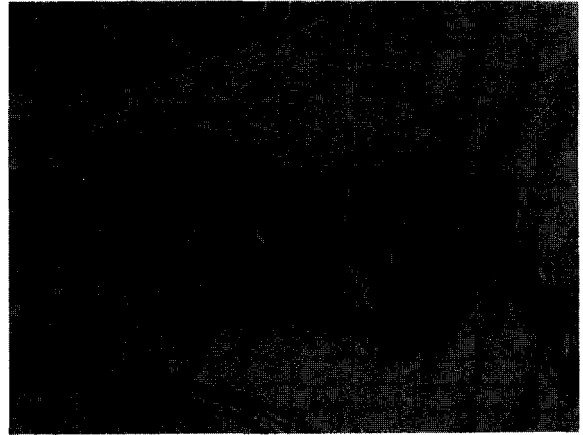


Fig. 2. Microphotogram of 7-day tissue shows strongly positive expression at osteoblasts in intermaxillary suture. (Immunostain of type I collagen, X100)

되지 않았다.

1일째에는 치주인대 간격은 12시간째와 큰 차이 없었고 치조골 흡수 및 혈관 증혈 역시 큰 차이 없었다. 4일째에는 치주인대의 무세포대가 관찰되었고 1일째에 비해 염증세포 침윤이 감소되었으나 치조골 가까이 파골세포에 의한 골흡수가 관찰되기 시작하였다. 7일째에는 치주인대 섬유질의 무질서한 배열이 유지되면서 그 하방의 치조골은 파골세포에 의한 골흡수가 4일째에 비해 더 많이 진행되었고 치경부와 치근단부위의 혈관 증식이 활발하였다.

14일째에는 치주인대 간격이 현저히 감소되었고 치주인대 섬유의 재배열이 관찰되고 미약한 염증세포 침윤이 잔존되어 있었으며 치조골 흡수도 많이 진행되었고, 28일째에는 14일째에 비해 치조골 흡수 및 염증세포 침윤은 미약하였다.

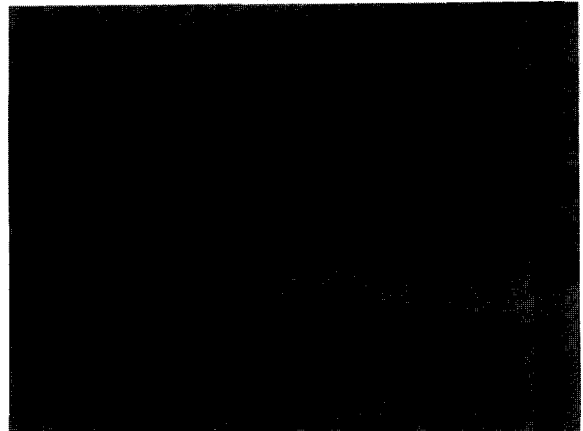


Fig. 3. Microphotogram of periodontal ligament of control reveals rare expression of type I collagen. (Immunostain of type I collagen, X100)

3) 대조군에서의 제1형 교원질의 발현 (Table 2)

대조군은 모든 치주조직에서 미만성으로 양성 반응을 보였는데, 구강 상피의 각화층에서는 양성 반응을 보인 반면 기저층 및 유극층은 음성이었다. 상아세관, 전상아질, 치수와 치주인대에서의 혈관, 내피세포와 혈관내강에서 경미한 발현을 보였고 치조골 내부에서는 거의 음성이었지만 치조골에 의한 조골세포와 약간융합 부위의 조골세포에서 약양성의 발현을 보였다(Fig.1, 3). 또한 치근단의 조백악세포와 백악질에서는 기저막을 중심으로 약양성의 발현을 보였

으며 치주인대 내의 발현은 경미하였고 치경부와 치근단 부위의 치주섬유 간의 차이는 없었다.

4) 실험군에서의 제1형 교원질의 발현 (Table 2)

견인력을 가한 지 12시간째에서 제1형 교원질의 발현과 그에 따른 염색도는 압박측과 견인측 간에 차이 없이 유사하였는데 치조골의 골기질에서는 거의 음성이었고 조골세포에서는 약양성의 발현을 보인 반면 골원세포는 미약한 발색을 나타내었다(Fig. 4,5).

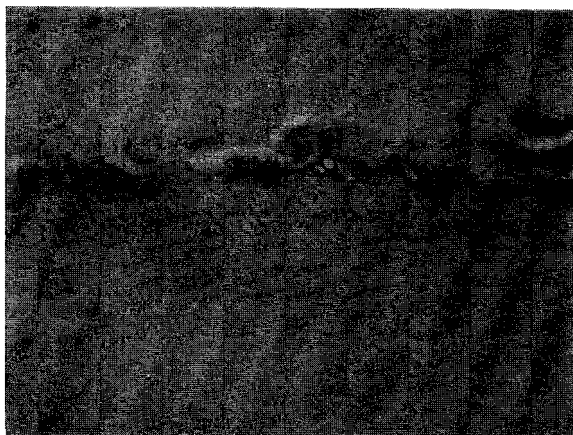


Fig. 4. Microphotogram at pressure side of periodontal ligament in 12-hour shows mild expression of type I collagen. (Immunostain of type I collagen, X40)



Fig. 6. Microphotogram in 1-day tissue shows positive expression of type I collagen at tension side of periodontal ligament. Positive reactions were noted in osteoblast bordered at alveolar bone, osteocyte and periodontal fibroblasts. (Immunostain of type I collagen, X100)



Fig. 5. Microphotogram at tension side of periodontal ligament in 12-hour shows mild expression of type I collagen. (Immunostain of type I collagen, X100)



Fig. 7. Microphotogram in 4-day tissue shows more positive expression in apical area than in middle thirds of alveolar bone. (Immunostain of type I collagen, X40)

무세포성 백악질에서 약양성, 조백악세포에서 중등도의 발현을 보였으며 치주인대 내부에서는 치조골에 인접한 부위보다 백악질에 인접한 부위에서 주로 경미한 발현을 보였고 치경부와 치근부 간의 차이는 없었다. 상아세관 및 전상아질에서도 미판성의 경미한 양성 반응을 보였으며 치수 내부는 거의 음성이고 약간봉합에서는 약양성의 발현이 조골세포를 중심으로

로 관찰되어 대조군과 큰 차이가 없었다.

1일째에서는 구강 상피, 치수, 조상아세포, 전상아질에서 대조군과 차이가 없었으나 치조골에 인접한 치주인대에서 주로 혈관을 중심으로 약양성의 발현이 나타나기 시작하였으며 이러한 현상은 압박측보다 견인측에서 더 많았다. 치근단의 조백악세포와 백악질도 12시간째에 비해 증가된 중등도의 발현을 보



Fig. 8. High power magnification of Fig. 7. (Immunostain of type I collagen, X100)

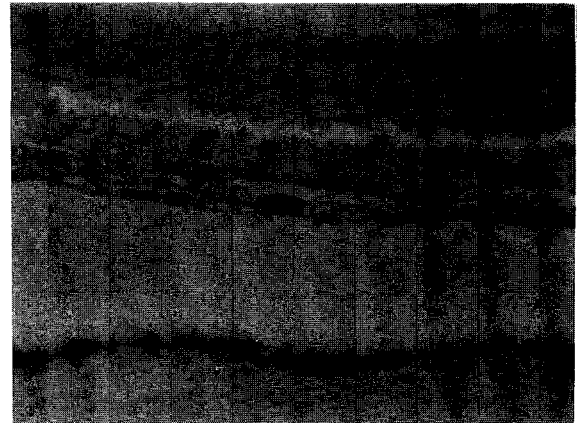


Fig. 10. Microphotogram of 7-day tissue shows mild expression of type I collagen in tension side of periodontal ligament. (Immunostain of type I collagen, X40)

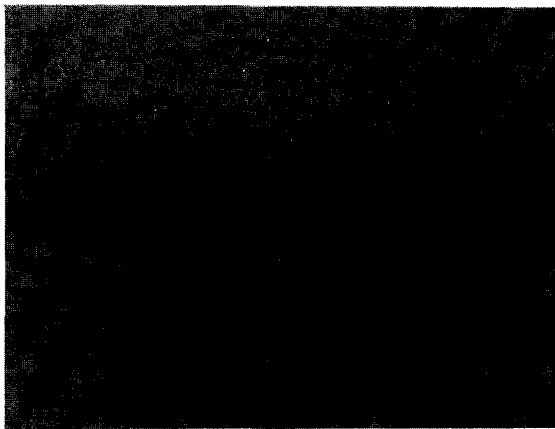


Fig. 9. Microphotogram in 7-day tissue reveals more expression of type I collagen in cementum and alveolar bone area than in the center of periodontium. (Immunostain of type I collagen, X100)

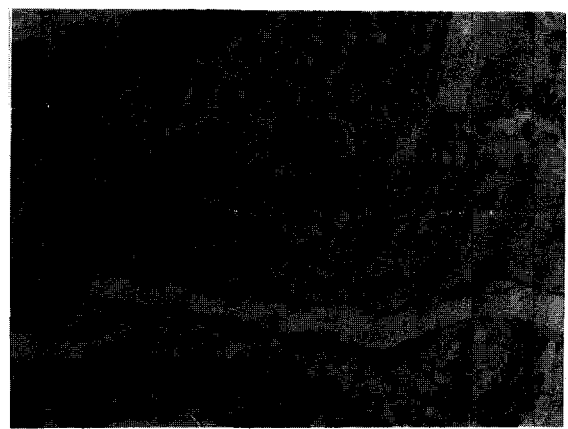


Fig. 11. Microphotogram in 14-day tissue shows strongly positive expression of type I collagen at apical side of periodontium. (Immunostain of type I collagen, X100)

였으며, 주위 치조골에서의 발현은 대조군과 차이가 없었다(Fig. 6).

4일째에서는 약간불합이나 조골세포, 조백악세포에서의 양성 발현이 1일째와 유사한 중등도를 유지하였으나 치경부와 치근단의 치주인대에서 중등도의 발현 증가가 관찰되었으며 이는 압박측보다 견인측

에서 많았다. 치조골 내부의 골기질은 대조군과 큰 차이 없이 경미하였으며 치수의 혈관에도 경미한 발현이 관찰되었다(Fig. 7,8).

7일째에도 치수, 백악질, 상아질, 치은, 약간불합에서 발현은 4일째와 큰 차이가 없었으나 압박측 및 견인측의 치조골에서의 발현이 약양성 혹은 중등도로

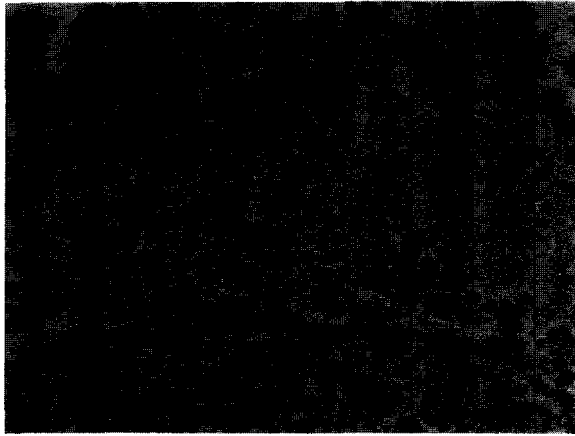


Fig. 12. Microphotogram in 28-day tissue shows strongly positive expression in osteoblasts. (Immunostain of type I collagen, X200)

나타나기 시작하였으며 견인측의 치주인대가 압박측과 비교될 정도로 강양성으로 관찰되었다(Fig. 9,10). 14일째에서는 압박측 치주인대에서의 제1형 교원질의 발현이 감소되었고 치조골에 인접한 조골세포에서의 발현이 증가되어 강양성으로 관찰되었다. Malassez 상피잔사에서도 중등도의 발현이 있었고 주로 치근단과 치경부의 조골세포는 강양성을 띠었으며, 골기질에서는 경미한 정도의 양성 반응이 있었다(Fig. 2,11).

28일째에서는 치수 혈관과 내피세포, 치근단 조백악세포, 전상아질에서는 14일째와 큰 차이가 없었고 치주인대에서의 양성 발현도 거의 없어서 약양성을 보였으며 성숙골 및 골개조 부위에서의 조골세포에서는 14일째에 비해 감소된 약양성으로 발현되었다(Fig.12).

IV. 총괄 및 고찰

교정적 치아 이동은 압박측에서 파골세포가 나타나서 치조골을 흡수시키고 견인측에서는 조골세포가 나타나서 신생골을 첨가시키면서 골개조가 일어나서 가능해진다^{5,10,36}. 골개조의 능력은 초기에 유전자에 의하여 결정되지만 그 정도는 후천성 또는 환경적인 요인에 의하여 영향을 받게 되므로^{37,38} 교정 영역에서 이들 세포의 성장, 분화 및 대사에 관한 연구는 필수적이라고 할 수 있다.

견인력에 의해 치아가 이동하기 위해서는 파골세포가 출현하여 압박측 치주인대의 인접골을 제거할 수 있어야 하고 신장 부위에서는 조골세포가 새로운 골을 형성하여 압박측의 흡수된 부위를 개조하여야 된다. Miura와 Kurilhara³⁹, Waldo⁴⁰에 따르면 압박측에서 12시간에 파골세포가 나타나서 7일간 존속하며, 골흡수는 1-14일까지 지속되고 골침가는 21일부터 시작한다고 하였다. 본 연구에서는 1일째에서부터 골흡수가 관찰되어 14일째에 최고도에 달하였다.

Macapanpan⁴¹에 따르면 견인력을 받은 압박측 치주인대에는 초자질화대가 형성된다고 하였으며, Reitan과 Kvam⁴²은 광범위한 초자질화대는 치아 이동을 저지시키며 치근 흡수를 일어나게 할 수 있다고 하였으며 초자질화된 치주인대에서는 교원섬유들이 보이지 않고 주위 간질 물질과 합쳐져서 균일하게 나타난다고 하였다. Glickman⁴³은 치주인대에 초자질화대가 나타난다는 것은 치주 질환의 진행 과정에서 중요한 의미가 있다고 하였다. Reitan과 Kvam⁴²도 이런 초자양 변성은 백서 같은 작은 동물에서는 즉시 그리고 조기 발생한다고 하였으며, Macapanpan⁴¹은 이런 초자양 변성의 발생은 견인력을 가한지 6시간이 소요된다고 하였으며, Azuma⁴⁴는 6-12시간이 소요된다고 하였으나 본 연구에서는 무세포대가 실험 4일째에 관찰되었다.

Azuma⁴⁴도 압박측 치주인대에서 초자양 변성된 치주인대 섬유의 재생은 21일 이상 소요되고 치조골의 부분적 재생도 이루어진다고 하였는데 본 연구에서도 치주인대 섬유의 증식과 염증세포 침윤 감소로 인한 치주인대 재생은 7일째부터 이루어지기 시작하였으나 28일째에도 완전한 치주인대 섬유의 재생은 관찰되지 않아 보다 충분한 치주인대의 재생을 관찰하기 위해서는 장기적인 관찰이 필요하다고 사료된다.

견인력의 크기와 기간 요소에 대해, Storey와 Smith¹¹는 견인측에는 혈액 순환이 증가하여 조골세포의 수와 크기가 증가하고 새로운 골 조직이 형성되나, 지나치게 강한 힘은 골형성을 억제하거나 지연시킬 수 있다고 하였다. Aisenberg⁴⁵는 강한 힘을 가하면 힘의 방향으로 골소주가 형성되고, 약한 힘의 경우에는 치조골 전반에 걸쳐 신생골이 형성되므로 고정기간이 단축된다고 하였으며, Ackerman과 Cohen⁴⁶은 신생골 형성은 힘의 크기 보다 기간에 더 큰 관계가 있다고 하였다. 본 연구에서 75g의 비교적 약하며 단기간의 힘을 이용하였으므로, 실험군에서의 견인측

과 압박측의 치주조직 변화에서 극적인 골흡수 소견이나 조직 파괴의 양상, 심한 초자양 변성, 왕성한 골침가 반응 등은 볼 수 없었으나 실험 28일째에는 많은 신생골 형성을 보였다.

제1형 교원질은 골기질의 무기질화된 성분의 90% 이상을 차지하는 가장 흔한 교원성 골 단백질로서 전구 물질인 procollagen으로부터 단백 분해 효소에 의해 생성된다. 제1형 교원질의 세포의 합성 과정 중 원섬유(fibril)로 되기 전에 아미노 말단과 카르복시 말단부의 펩티드가 절단되는데, 1:1의 화학량론적비(stoichiometric ratio)로 생산된다. α -chains에는 약 1000여개의 amino acids가 있으며 매 3번째마다 glycine이 존재하는 (X-Y-Gly) $_n$ 이 반복되는 구조로서 glycine, alanine, proline, hydroxyproline 등 20개 정도의 amino acids가 발견되며 proline과 hydroxyproline이 다량 함유되어 있다. X와 Y 위치에는 glycine 이외의 amino acids가 위치하게 된다¹⁹⁾. X와 Y 위치의 amino acids들은 각기 다른 유전자에 의해 생성되며 제1형 교원질의 유전자는 17과 7 염색체(chromosome)에 위치한다²⁰⁾.

아미노 말단부의 펩티드는 뼈에 축적되는 것으로 추정되는데 제1형 교원질이 생성될 때 카르복시 말단부가 혈중으로 방출되므로 골형성을 측정에 이용될 수 있다. 혈청 PICP의 측정은 radioimmunoassay나 ELISER법을 사용하는데, 박테리아 collagenase로 절단한 인간 섬유모세포를 배양한 후 토끼에 주사해서 얻은 다세포균항체나 단세포균항체가 이용되고 있다²¹⁾.

치조골 기질에서의 교원질 분포에 관한 보고를 살펴보면 제1형 교원질이 존재하는 반면 제3형 교원질은 존재하지 않았다⁴⁷⁾. 본 실험에서는 제1형 교원질에 대해 거의 음성이었는데 이런 약반응을 나타낸 것은 아마도 골의 석회화의 결과로 항원 결정 인자가 부분적으로 발현되었거나, 고정액 침투가 어려웠기 때문일 것으로 생각된다³⁵⁾.

본 연구에서 골 조직 중 골 재생에 관여하는 세포인 조골세포와 골원세포에서의 제1형 교원질 발현은 견인력을 가한 후 골재생이 됨에 따라 발생하는 것으로 보이며 특히 신생골 부위에서의 많은 발현을 볼 수 있었다. 또한 조골세포가 붙어 있는 골 주변부에서 강하게 반응을 보였다. 이러한 현상은 등골고 활동성이 강한 조골세포가 관련되어 그 주변에 제1형 교원질이 빈번히 관찰되었고, in vivo에서 골 형성 전에 발생하는 간염세포의 분화시에 제1형 교원질이 증가

가 관찰된 것이 이를 뒷받침해 준다.

치근 상아질 표면을 따라 형성 중인 초기 무세포성 백악질 기질은 제1형 교원질에 대해 강한 발현을 나타내었는데 이것은 백악질의 주된 교원질이 제1형 교원질이라는 보고³⁵⁾와 일치한다. 본 연구의 백악질에서는 대조군에서 약양성의 발현을 보였지만 치아 이동 1일째에 중등도, 7일째에는 강양성의 발현을 보였다. 이는 견인력에 의한 치조골의 반응은 정상적인 골개조 과정에서 관찰되는 소견과 유사하여 골개조 과정에서의 세포 활성화는 수 시간 이내에 이루어지며 흡수는 한 달간 계속되고 다양한 반전기를 거친 다음에 골 형성이 2-3개월간 지속된다고 한 Frost⁴⁸⁾의 견해대로 골개조에 따라 치근이동이 이루어져 이의 활성이 제1형 교원질 발현 증가로 나타났다고 사료된다.

Thesleff등⁴⁹⁾은 형성 중인 상아질과 상아전질에서 제1형과 제3형 교원질의 분포를 보고하였고, Munksgaard등⁵⁰⁾은 생화학적 방법에 의해 상아질과 상아전질에서는 제3형 교원질이 존재하지 않음을 보고하였다. 또한 Lechner와 Kalnitsky⁵¹⁾는 치수의 기질에는 제1형과 제3형 교원질이 일정한 비율로 존재하고 있다고 하였다. 그러나 본 연구에서는 전상아질과 상아세판에서는 경미한 발현을 보였고 조상아세포에서만 대조군에 비해 치아 이동 초기인 1일째와 4일째에서 약양성의 발현을 보였다.

본 연구의 치주인대에서는 4일째부터 압박측보다 견인측에서 제1형 교원질의 발현이 많아져 7일째에 최고조에 달하다가 14일째부터는 차이가 없었는데, 이는 제1형 교원질의 발현이 특정 시기와 밀접한 관계가 있다는 것을 시사하고 있으며 증가된 세포 활성화에 따라 골개조를 위한 골단백질의 증가가 있었기 때문으로 사료된다. 또한 견인력의 적용에 따른 조직의 적응 과정의 일환으로, 압박측에서도 골흡수 기전을 통한 골 재형성 초기에 제1형 교원질의 발현이 증가되는 것으로 보아 골개조시 제1형 교원질이 모종의 역할을 담당할 것으로 추측할 수 있을 것으로 보인다. 본 연구에서는 치아 이동시 정중구개봉합 부위도 확장되었는데 이의 재생 과정에서 제1형 교원질이 광범위하게 분포되었다. 정상 대조군의 경우 약양성의 발현을 보이다가 치아 이동 1일째부터 강한 염색상을 보여 골 형성과 개조시에 제1형 교원질의 침착이 많은 것을 확인할 수 있었다.

그러므로 제1형 교원질은 교정적 치아 이동 후 골개조가 진행되는 동안 조직 형성 세포의 기시와 초기

형성에 상당한 역할을 하고, 나아가 조직 재형성 과정에서 중요한 세포의 기질 성분인 것으로 여겨진다.

제1형 교원질에 관한 연구는 세포의 활동, 조직 치유와 재생을 이해하는데 의의 있는 것으로 생각되지만 견인력에 의한 조직 반응을 견인측, 압박측의 골침가 및 골흡수 기전에 따르는 일련의 반복적인 과정으로 보는 고정적인 시각에서 벗어나 보다 더 생리적인 범위 내에서의 생체의 항상성 유지를 위한 반응으로 시각을 넓혀 보다 많은 연구가 필요하리라 본다. 또한 세포의 기질은 그 작용이 국소적임을 고려할 때, 견인력에 의한 조직의 변화도 역시 국소적이므로 세포의 기질의 분비 및 작용도 이에 뒤따르리라는 것을 예측할 수 있으나, 제1형 교원질도 수 많은 교원 단백질 중의 일종일 뿐으로, 알려지지 않은 다른 조직 세포의 기질의 역할에 대해서도 역시 규명되어야 할 것이다. 한편, 각 세포들에 대한 제1형 교원질의 효과는 대부분 세포 배양을 통한 시험관내 실험의 결과가 대부분이고 생체 내에서의 작용에 관해서는 거의 유추 해석한 것이 많아 앞으로 많은 연구가 요구되는 분야라 여겨지며, 세포의 기질과 관련시켜 치조골의 변화, 치주인대 섬유소의 변화, 각 세포들의 활성화 변화 등의 보다 진전된 연구가 이루어져야 하리라 보인다.

V. 결 론

견인력에 의한 치아 이동시 전반적인 치주조직의 변화를 관찰하고 이에 따른 제1형 교원질의 발현 정도 및 분포 변화를 알아보고자, Sprague-Dawley계 백서 21마리를 대상으로 대조군(3마리)과 실험군(18마리)으로 나누었으며, 실험군은 양 중절치 사리에 견인력(75g)을 가한 후 12시간, 1일, 4일, 7일, 14일, 28일이 경과한 후 각각 3마리씩 희생시켜, 시간에 따른 조직학적 변화와 제1형 교원질의 발현 분포를 조직병리학적 및 면역조직화학적으로 관찰한 바 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 견인력을 가한 후 28일째까지, 견인측의 치주인대 섬유소는 신장되어 있었고, 압박측의 치주인대 섬유소는 압축되어 있었으며 치주인대 섬유소의 배열이 완전히 회복되지 않았다.
2. 대조군의 제1형 교원질 발현은 구강 상피, 전상아질, 치수와 치주인대에서 경미하였으나, 치조골에 연한 조골세포, 치근단의 무세포성 백악질, 조백악세포와 악간융합 부위에서 약양성의 발현을 보였

다

3. 실험군의 무세포성 백악질에서는 제1형 교원질이 치아 이동 1일째에 중등도, 7일째에는 강양성의 발현을 보이며 28일째까지 유지되었다.
4. 실험군의 정중구개융합 부위에서는 제1형 교원질이 치아 이동 1일째에 중등도, 14일째에는 강양성의 발현을 보이며 28일째까지 유지되었다.
5. 실험군의 치주인대에서는 치아 이동 4일째에서 견인측이 압박측보다 제1형 교원질의 발현이 많아져 7일째에서 최고조에 달하다가 14일째부터는 측간의 차이가 없었다.
6. 실험군의 골조직에서는 조골세포가 붙어 있는 골주변부에서 제1형 교원질이 강하게 반응을 보여 대조군과 구별되었으며 특히 7일째 이후에 제1형 교원질의 발현이 많은 것으로 관찰되어 골개조 현상과 관련하여 주목되었다.

이러한 관찰로 교정적 치아 이동 후 골재형성 과정은 조직 형성 세포의 분화와 이들 세포에서 형성되는 제1형 교원질과 밀접한 관계가 있음을 확인할 수 있었다.

참 고 문 헌

1. Sandstedt C: Einige Beitrage zur Theorie der Zahnregulierung. Nordisk Tandlakare Tidsskrift, 5:236-256, 1904.
2. Schwartz AM: Tissue changes incidental to orthodontic tooth movement. Int J Orthod, 18:331-352, 1931.
3. Oppenheim A: Biologic orthodontic therapy and reality. Angle Orthod, 6:5-38, 1936.
4. Storey E: Bone changes associated with tooth movement. Aust J Dent, 59:147-161, 1955.
5. Reitan K: Tissue behavior during orthodontic tooth movement. Am J Orthod, 46:881-900, 1963.
6. Zaki AE, Huysen GV: Histology of the periodontium following tooth movement. J Dent Res, 42:1373-1379, 1963.
7. Singer J: A histologic study of the effect of fluoride on tooth movement in the rat. Am J Orthod, 53:296-308, 1967.
8. Koumas H: Effects of pressure on the formation of collagen in the periodontal ligament. Am J Orthod, 56:604-612, 1969.
9. Buck OL: Histologic evidence for lipid during human tooth movement. Am J Orthod, 64:619-624, 1973.
10. Reitan K: Biomechanical principle and reactions. In current orthodontic principles and techniques. ed by Graber, T.M., W.B. Saunders, Philadelphia, pp.56-159, 1969.

11. Storey E, Smith R: Force in orthodontics & its relation to tooth movement. *Aust J Dent*, 56:11-18, 1952.
12. Storey E, Smith R: The importance of force in orthodontics, the design of cuspid retraction springs. *Aust J Dent*, 56:291-304, 1952.
13. Storey E: The nature of tooth movement. *Am J Orthod*, 63:292-314, 1973.
14. Hixon EH, Atikian H, Callow CE, McDonald HW, Tacy RJ: Optimal force, difference in force and anchorage. *Am J Orthod*, 55:437-457, 1969.
15. Davidovitch Z, Montgomery PC, Eckerdal D, Gustafson GT: Cellular localization of cyclic AMP in periodontal tissues during experimental tooth movement in cats. *Calcif Tissue Res*, 19:317-329, 1976.
16. Norton LA, Rodan GA, Bourret LA: Epiphyseal cartilage cAMP changes produced by Ten Cate ART. *Oral histology and embryology*. Mosby Co, 9th ed, 223-230, 1980
17. Whitton DS, Sadowski JA, Suttie JW: Mechanism of coumarin action: Significance of vitamin epoxide reductase inhibition. *Biochemistry*, 17:1371-1377, 1978.
18. Wasi S, Otsuka K, Yao KL, Tung PS, Aubin JE, Sodek J, Termine JD: An osteonectin like protein in porcine periodontal ligament fibroblasts. *Canad J Biochem Cell Biol*, 62:470-478, 1984.
19. Salonen J, Domenicucci C, Goldberg HA, Sodek J: Immunohistochemical localization of SPARC(osteonectin) and denatured collagen and their relationship to remodeling in rat dental tissues. *Archs Oral Biol*, 35:337-346, 1990.
20. Ayard S, Boot HRP, Humphries MJ, Kadler KE, Shuttleworth CA: The extracellular matrix. *Factbook Academic Press*, 1994; pp.9-36.
21. Miller EJ: Biochemical characteristics and biological significance of the genetically-distinct collagens. *Mol Cell Biochem*, 13:165-192, 1976.
22. Fleischmajer R, Gay S, Perlish JS and Cesarini J: Immunoelectron microscopy of type III collagen in normal and scleroderma skin. *J Invest Dermat*, 75:189-191, 1980.
23. Fleischmajer R, Olsen BR, Timple R, Perlish JS and Lovelace O: Collagen fibril formation during embryogenesis. *Proceed Nat Aca Sci, USA* 80:3354-3358, 1983.
24. Epstein EH Jr: [α 1(III)]₃ human skin collagen: Release by pepsin digestion and preponderance in fetal life. *J Biol Chem*, 249:3325-3331, 1974.
25. Kleinman HK, McGravey ML, Hassell JR, Star VL, Cannon FB, Laurie GW and Martin GR: Basement membrane complexes with biological activity. *Biochem*, 25: 312-318, 1986.
26. Timpl R, Wick G and Gay S: Antibodies to distinct types of collagens and procollagens and their application in immunohistology. *J Immun*, 18:165-182, 1977.
27. Rao Ig, Wang H.M, Kalliecharan R, Heersche JNM and Sodek J: specific immunohistochemical localization of type I collagen in porcine periodontal tissues using the peroxidase-labelled antibody technique. *Histochem J*, 11:73-82, 1979.
28. Wang HM, Nanda V, Rao LG, Melcher AH, Heersche JNM and Sodek J: Specific immunohistochemical localization of type III collagen in porcine periodontal tissues using the peroxidase-anti-peroxidase methods. *J Histochem Cytochem*, 28:1215-1223, 1980.
29. Narayanan AS and Page RC: Connective tissues of the periodontium: A summary of current work. *Collagen and Related Res*, 3:33-64, 1983.
30. Cho MI, Garant PR and Lee YL: Immunohistological localization of collagen(I and III) and fibronectin in inflamed and non-inflamed gingival connective tissue and sulcular fluid of beagle dogs. *J Periodont Res*, 19:638-641, 1984.
31. Butler WT, Birkedal-Hansen H, Beegle WF, Taylor RE and Chung E: Protein of the periodontium identification of collagens with the [α 1(I)2] α 2 and [α 1(III)]₃ structures in bovine periodontal ligament. *J Biol Chem*, 10: 8907-8912, 1975.
32. Shuttleworth CA, Ward JL and Hirschmann PN: The presence of type III collagen in the developing tooth. *Biochem Biophys Acta*, 535:348-35, 1978.
33. Tung PS, Domenicucci C, Wasi S and Sodek J: Specific immunohistochemical localization of osteonectin and collagen type I and III in fetal and adult porcine dental tissues. *J Histochem Cytochem*, 33:531-540, 1985.
34. Takita K, Ohsaki Y, Nakata M and Kurisu K: Immunofluorescence localization of type I and type III collagen and fibronectin in mouse dental tissues in late development and during molar eruption. *Archs Oral Biol*, 32: 273-279, 1987.
35. Huang YH, Ohsaki Y and Kurisu K: Distribution of type I and type III collagen in developing periodontal ligament of mice. *Matrix*. 11:25-35, 1991.
36. Kvam E: Scanning electron microscopy of tissue changes in the pressure surface of human premolar following tooth movement. *Scan J Dent Res*, 80:357-368, 1972.
37. Miller SC: Hormonal regulation of osteogenesis in the biological mechanism of tooth eruption and root resorption. ed by Davidovich, Z., EBSCO Media, Birmingham, pp.71-79, 1988.
38. Canalis E, McCarthy T, Centrella M: The regulation of bone formation by local growth factors, *Bone. Min. Res.* 6th ed. by Peck, W.A., Elsevier Science Publishers B.V., pp. 27-56, 1989.
39. Miura F, Kurilhara S: Alveolar bone reaction caused by orthodontic stimulus. *Dent Outlook*, 61:1231-1242, 1983.
40. Waldo CM: Method for the study of tissue response to tooth movement. *J Dent Res*, 32:690-691, 1953.

41. Macapanpan LC, Weinmann JP, Brodie AG: Early tissue changes following tooth movements in rats. *Angle Orthod*, 24:79-95, 1954.
42. Reitan K, Kvam E: Comparative behavior of human and animal tissue during experimental tooth movement. *Angle Orthod*, 41:1-14, 1971.
43. Glickman I: *Clinical periodontology*. W.B.Saunders Co, pp.332, 1972.
44. Azuma M: Study on histologic changes of periodontal membrane incident to experimental tooth movement. *Bull Tokyo Med Dent Uni*, 17:149-178, 1970.
45. Aisenberg MS: The tissue and change involved in orthodontic tooth movement. *Am J Orthod*, 34:854-859, 1948.
46. Ackerman JL, Cohen MI: The effects of quantified pressures on bones. *Am J Orthod*, 52:34-46, 1966.
47. Cournil CP, Leblond J, Pomponio J, Hand AR, Sederlof L and Martin GR: Immunohistochemical localization of procollagens I. Light microscopic distribution of procollagen I, III and IV antigenicity in the rat incisor tooth by the indirect peroxidase-anti-peroxidase method. *J Histochem Cytochem*, 27:1059-1069, 1979.
48. Frost HM: Tetracycline based histological analysis of bone remodeling. *Calcif Tissue Res*, 3:211-237, 1969.
49. Thesleff L, Stenman S, Vaheri A and Timpl R: Changes in the matrix proteins, fibronectin and collagen, during differentiation of mouse tooth germ. *Dev Biol*, 70:116-126, 1979.
50. Munksgaard EC, Rhodes M, Mayne R and Butler WT: Collagen synthesis and secretion by rat incisor odontoblasts in organ culture. *Eur J Biochem*, 82:609-617, 1978.
51. Lechner JH and Kalnitsky G: The presence of large amounts of type III collagen in bovine dental pulp and its significance with regard to the mechanism of dentinogenesis. *Archs Oral Biol*, 26:265-273, 1981.

-ABSTRACT-

The Expression of Type I Collagen in Periodontal Tissue during the Experimental Movement of Rat Incisors

Sang-Cheol Kim, D.D.S., M.S.D., Ph.D., In-Seop Jeon, D.D.S., M.S.D.

Department of Orthodontics, College of Dentistry, Wonkwang University

This study was designed to evaluate the expression of type I collagen in periodontal tissue during the experimental movement of rat incisors. Twenty-one Sprague-Dawley rats were divided into a control group(3 rats), and experimental groups(18 rats) where a force(75g) from helical springs across the maxillary incisors was applied. Experimental groups were sacrificed at 12 hours, 1, 4, 7, 14 and 28 days after force application, respectively. And tissue slides of control and experimental groups were studied histologically and immunohistochemically by LSAB(Labelled streptavidine Biotin) immunohistochemical staining for type I collagen .

The results were as follows :

1. Until 28-day after force application, periodontal fibers were stretched on the tension side, and compressed in pressure side, and the arrangement of periodontal fibers was not recovered by that time.
2. The degree of type I collagen expression in control group was rare in the oral epithelium, predentin, pulp and periodontal ligament, but was mildly positive in osteoblasts, acellular cementum, cementoblasts, intermaxillary suture.
3. At acellular cementum of experimental group, the expression of type I collagen was moderate in 1-day and severe in 7-day, which was maintained until 28-day.

4. Type I collagen was observed in the newly formed fibrous connective tissue and osteoblasts at intermaxillary suture, moderately in 1-day, and severely in 14-day.
5. The tension side of periodontal ligament showed a more positive expression of type I collagen than the pressure side in 4-day. The degree was highest in 7-day and was not differentiated between sides in 14-day.
6. In the side wall of bone matrix on which osteoblasts were attached, type I collagen was expressed severely, especially in 7-day.

From the above findings, we could suggest that bone remodeling in tooth movement be intimately related to the cell differentiation and the resulting formation of type I collagen.

KOREA. J. ORTHOD. 1996 ; 26 : 455-466

※ **Key words** : orthodontic force, tooth movement, bone remodelling, type I collagen