

1,25-Dihydroxyvitamin D₃가 치주인대세포활성 및 실험적 치아이동에 미치는 영향에 관한 연구

김 성 우¹⁾ · 박 동 권²⁾ · 김 상 철²⁾

교정치료를 시 치아이동은 치주인대세포를 매개로 골조직의 개조가 일어나는 과정으로서 골조직의 성장과 개조는 조골세포, 파골세포 및 그 전구세포의 증식, 분화 및 활성화에 영향을 미치는 여러가지 전신적 인자와 국소적 인자에 의하여 조절되고 있다.

1,25-Dihydroxyvitamin D₃는 vitamin D₃의 대사물질로서 경조직에 있어서 칼슘과 인산의 이동에 중요한 역할을 담당하고 있는 것으로 알려져 있으나 치주인대에 대한 1,25-Dihydroxyvitamin D₃의 생물학적 기능은 잘 알려져 있지 않다.

1,25-Dihydroxyvitamin D₃가 치주인대세포의 활성화에 미치는 영향을 관찰하고자 10, 25, 50, 100ng/ml농도의 1,25-Dihydroxyvitamin D₃를 배양 치주인대세포에 첨가하여 배양 1, 2, 3일 후 M.T.T. 방법으로 세포의 활성을 관찰하였으며, 백서의 실험적 치아이동시 치주인대 내에 1,25-Dihydroxyvitamin D₃를 투여하여 12, 24, 36, 48, 72시간 및 7일 후의 조직 변화 소견을 관찰하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 10ng, 25ng/ml 농도의 1,25-Dihydroxyvitamin D₃를 치주인대세포에 가한 후 배양 1, 2, 3일째의 실험군 활성은 대조군과 차이가 없었다.
2. 50ng/ml 농도의 1,25-Dihydroxyvitamin D₃를 치주인대세포에 가한 후 배양 3일째의 활성은 대조군에 비하여 유의하게 증가되었으며 100ng/ml농도에서는 배양 2, 3일째에 유의하게 많았다.
3. 백서에 교정력을 가한 후 인장측에서의 골아세포 활성, 치주인대섬유의 파열, 모세혈관 증식은 투여후 7일까지 1,25-Dihydroxyvitamin D₃ 투여측과 대조측 간에 차이가 없었다.
4. 교정력을 가한 후 36시간부터 1,25-Dihydroxyvitamin D₃를 투여한 압박측의 파골세포 활성 및 치조골 흡수량이 증가하였다.

이상과 같은 결과로, 50-100ng/ml 농도에서 1,25-Dihydroxyvitamin D₃의 농도와 배양 기간에 비례하여 치주인대세포의 활성이 증가하였으며 1,25-Dihydroxyvitamin D₃가 투여 36시간부터 파골세포의 활성화와 그에 따른 치조골 흡수량 증가에 영향을 미쳤다고 사료된다.

(주요단어 : Vitamine D, 치주인대세포, 실험적 치아이동, 세포 활성)

I. 서 론

치아에 교정력을 가하면 치주인대는 압축되거나

견인력을 받게 되며, 압박측에서는 파골세포가 나타나서 치조골을 흡수시키고 견인측에서는 조골세포가 나타나서 신생골을 첨가시키면서 치아가 이동하게 된다. 즉 교정력에 의한 치아 이동은 치주인대세포를 매개로 골형성과 골흡수 과정이 반복되는 골개조의 결과이다¹⁾.

골조직은 태생후에도 계속적인 골흡수와 골형성이

¹⁾ 원광대학교 치과대학 치과교정학교실, 대학원생

¹⁾ 원광대학교 치과대학 치과교정학교실, 대학원생

³⁾ 원광대학교 치과대학 치과교정학교실, 교수

반복되는 동적인 조직이며²⁾ 이러한 골조직의 성장과 개조는 조골세포, 파골세포 및 그 전구세포의 증식, 분화 및 활성화에 영향을 미치는 호르몬 등의 전신적 인자와 cytokine 같은 국소적 인자에 의하여 조절되고 있다^{3,4)}.

전신적 인자는 parathyroid hormone(PTH), 1,25-Dihydroxyvitamin D₃, calcitonin, estrogen 및 glucocorticoid 등의 호르몬이 포함되고 있다. 국소적 조절물질은 대부분 성장인자로서 골기질에서 발견되고, 골세포에 의하여 생성되며, autocrine action 또는 paracrine action으로 그 조절기능이 표현되는 것으로 알려져 있다^{5,6,7,8)}.

비석회화된 결체조직으로서 다른 결체조직과 성격을 달리하며 충격을 흡수, 전달하는 기능을 갖고 있는 치주인대의 세포들은 교정적 치아이동시 인접한 백악질과 치조골의 개조에 중요한 기능을 담당한다고 알려져 있다⁹⁾. 치주인대세포는 조골세포의 기능을 나타내는 지표인 alkaline phosphatase(ALP) 활성도가 높으며 제1, 3, 5형 교원질을 합성하고 osteonectin, bone proteoglycan I, bone sialoprotein I 등을 생성함으로써 다른 결체조직에 존재하는 세포와 달리 경조직을 형성하는 세포의 특성과 유사하다는 연구가 계속 보고되고 있다^{10,11,12)}.

1,25-Dihydroxyvitamin D₃는 vitamin D₃의 대사물질로서 경조직에 있어서 칼슘과 인산의 이동에 중요한 역할을 담당하고 있으며 장에서 칼슘과 인의 흡수를 촉진하는 등 중요한 생리적 작용을 하고 있으며 골흡수를 증가시키나 골형성 억제 효과는 고농도일 때만 일어난다고 Raisz⁶⁾가 보고하였다. Collins와 Sinclair¹³⁾는 교정적 치아이동시 백서의 치주인대 내에 1,25-Dihydroxyvitamin D₃를 국소적으로 투여한 결과 압박측에서 치조골 흡수가 많아지는 것을 발견하고 임상교정에서의 적용 가능성을 제시하였다. 그러나 Beresford¹⁴⁾은 1,25-Dihydroxyvitamin D₃가 사람의 골세포에서 제1형 교원질과 ALP 활성을 강력하게 증가시킨다고 보고하였고, Endo¹⁵⁾은 *in vitro*에서 1,25-Dihydroxyvitamin D₃가 골형성을 촉진한다고 하여 1,25-Dihydroxyvitamin D₃의 효과에 대해 상반된 보고를 하고 있다.

Reitan¹⁶⁾과 Rygh¹⁷⁾는 교정력에 의한 치아이동시 치조골의 변화에 대한 조직학적 관찰을 하며, 치주인대 및 그곳에 존재하는 세포들을 잘 관찰하는 것이 치아이동의 기구에 관한 의문을 해결할 수 있는 방법으로 생각한다고 제시한 바 있으며, Roberts¹⁸⁾은 치

아이동이란 결국 치주인대에 존재하는 전구세포가 활성화되며 성장, 분화되어 골개조에 직접적인 역할을 하기 때문에 치주인대세포가 중심적 역할을 한다고 강조한 바 있다,

이에 본 연구는 배양된 사람 치주인대세포를 이용하여 1,25-Dihydroxyvitamin D₃가 치주인대세포의 활성화에 미치는 영향을 관찰하고 백서의 교정적 치아이동시 치주인대 내에 1,25-Dihydroxyvitamin D₃를 투여하여 치주인대조직에 대한 생물학적 기능을 평가하여 봄으로써 다소의 지견을 얻었기에 보고하는 바이다.

II. 연구재료 및 방법

1) 연구재료

원광대학교 치과대학 부속 치과병원 교정과에 내원하여 상, 하악 제1소구치 발거를 요하는 환자로서 전신 질환이 없고, 건강이 양호하여, 임상적으로 치주 질환이 없다고 판정된 환자의 치아를 발거하여 부착된 치주조직을 채득하여 초기배양 후 계대배양을 통하여 얻은 치주인대세포를 사용하였다.

치아이동에 사용된 실험동물은 원광대학교 의과대학 동물 사육실에서 일정기간 사육한 체중 200g 내외의 Sprague-Dawley계 백서 20마리를 이용하였다.

치주인대세포 실험에서는 1,25-Dihydroxyvitamin D₃(Calbiochem[®], USA)를 Dimethyl sulfoxide(DMSO)에 100, 50, 25, 10ng/ml 농도로 희석하여 사용하였으며, 치아이동 실험에서는 50µg/ml의 농도로 희석하여 주사하였다.

2) 연구방법

A. 1,25-Dihydroxyvitamin D₃가 치주인대세포의 활성화에 미치는 영향 측정

1. 세포배양

치아를 발거하기 1주일 전부터 환자에게 잇솔질을 잘 하도록 하고, 클로르헥사메드(부광약품)로 양치하도록 권유한 후 무균상태에서 치주인대세포의 분리를 위하여 발거된 치아를 penicillin, streptomycin(Gibco Co., USA) 및 10% fetal bovine serum(FBS, Gibco Co., USA)이 첨가된 minimum essential medium(MEM, Gibco Co., USA)으로 3-4회 세척한 후

curette을 이용하여 치주인대를 채득하였으며 10% FBS가 포함된 α -MEM(Gibco Co., USA)이 들어있는 60mm culture dish(Corning Co., USA)에 위치시킨 후 37°C, 습도 95%를 유지하면서 5% CO₂가 함유된 CO₂ incubator에서 배양하였다. 10% FBS가 첨가된 MEM을 매일 교환하며 위상차 현미경을 사용하여 배양조직으로부터 치주인대세포가 조직 외부로 자라나오는 것을 관찰한 후 0.5% trypsin과 5.3mM ethylenediamine-tetraacetic acid(EDTA, Gibco Co, USA)로 세포를 떼어 내어 1000 x g로 4°C에서 10분간 원심분리하여 세포를 수집한 후 Hanks' balanced salt solution(HBSS, Gibco Co., USA)을 사용하여 2-3회 세척하였다. 10% FBS가 포함된 MEM에서 35mm 배양접시에 1:3으로 계대배양을 시행하였다.

2. 1,25-Dihydroxyvitamin D₃ 투여 후 세포활성 측정
상기와 같이 계대배양한 치주인대세포를 선택하여 실험 전일 분주한 다음 1일간 배양하고 100, 50, 25, 10ng/ml 농도의 1,25-Dihydroxyvitamin D₃를 가한 후 1, 2, 3일간 배양하고, 생리식염수에 용해한 MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide: No. M2128, Sigma Co., USA) 용액 50 μ l를 각 well에 넣고 4시간동안 배양 후 MTT용액을 버리고, DMSO를 50 μ l씩 첨가하여 formazan 결정을 용해시킨 후 세포활성도의 측정을 위해 96-well plate 상으로 옮겼다. Plate를 잘 흔든 후 ELISA analyser (Model ETY-96, Toyo Instruments Inc., Japan)에 plate를 넣고 630nm를 기준으로 570nm에서 흡광도를 측정하였다. 매 실험마다 실험용액이 들어있지 않은 배양액을 대조군으로 하여 대조군에 대한 백분율로 세포활성도를 산출하였다.

3. 통계분석

대조군에 대한 백분율로 환산된 세포활성도의 평균과 표준편차를 농도와 시간에 따라 구하고 분산분석법(ANOVA)을 이용하여 통계학적 유의성을 검증하였다.

B. 1,25-Dihydroxyvitamin D₃가 백서의 실험적 치아이동에 미치는 영향에 관한 조직병리학적 관찰

1. spring 장착

200g 내외의 웅성백서 21마리를 대조군과 12시간, 24시간, 36시간, 48시간, 3일, 7일의 실험 경과군으로

구분하여 각 군당 3마리씩을 배정하였다. 0.014" stainless steel helical spring을 제작하였으며 tension gauge를 이용하여 힘의 크기(100g)를 확인하였다. 염산 케타민(Ketamine[®]: 유한양행)을 둔부에 체중 kg당 5-10mg씩 근육주사하여 마취한 후, 상악 절치의 순면과 원심면에 low-speed engine과 1/4 round bur로 홈을 형성하여 helical spring을 고정하였다. 양 상악 중절치의 원심면에 0.009" ligature wire를 이용하여 helical spring을 부착시키고, 하악절치는 상악절치와의 마모로 인한 장치의 손상을 피하기 위하여 삭제하였다.

2. 1,25-Dihydroxyvitamin D₃ 투여

각 실험군에서 한마리에는 압박측에 1,25-Dihydroxyvitamin D₃를 투여하였으며 다른 한 마리에는 인장측에 1,25-Dihydroxyvitamin D₃를 투여하였고, 나머지 다른 한 마리에는 압박측과 인장측에 1,25-Dihydroxyvitamin D₃를 투여하였다. 1,25-Dihydroxyvitamin D₃를 DMSO에 50 μ g/ml의 농도가 되게 녹여 각각 0.05ml씩 투여하였다.

3. 광학현미경 표본 및 조직학적 염색

동물을 희생시키고 10% 중성 포르말린에 고정된 후 10% nitric acid에 탈회시켰으며, 파라핀 포매하여 치아 장축 방향으로 절단해서 얻은 4-6 μ m의 박절표본을 poly-L-lysine을 도포한 슬라이드에 부착하였으며 hematoxylin and eosin 염색과 modified Masson's trichrome(Goldman's M.T.)염색을 시행하였다. 염색 방법은, xylene에 탈 paraffin과 흡수한 후 weigert iron hematoxylin에 3분간 염색하였다. 염색 후 1% HCl-alcohol에 탈색하고 수돗물에 10분간 수세한 후 ponceau-acid fuchsin 용액에 8분간 염색하고 이를 0.2% acetic acid 용액에 세번 정도 탈색하였다. 이후 phosphomolydic acid에 3분간 처리한 후 0.2% acetic acid 용액에 세번 탈색하고 light green 용액에 5분간 염색하였으며 0.2% acetic acid 용액에 세번 세척하고 탈수와 청명을 거쳐 mounting후 검경하였다.

III. 연구 성적

1. 1,25-Dihydroxyvitamin D₃의 치주인대세포 활성에 대한 영향(Table 1)

치주인대세포를 배양하여 1,25-Dihydroxyvitamin D₃의 영향을 관찰한 결과 배양 1일째에서는 10ng/ml

Table 1. The Effect of 1,25-Dihydroxyvitamin D₃ on the Activity of Cultured Periodontal Ligament Cells (% , mean ± S.D)

	1 day	2 days	3 days
control	100.00 ± 4.16	100.00 ± 6.84	100.00 ± 8.71
10ng/ml	101.56 ± 8.46	104.93 ± 1.60	100.25 ± 3.02
25ng/ml	104.79 ± 3.43	111.79 ± 9.74	108.23 ± 5.93
50ng/ml	104.05 ± 7.78	109.09 ± 2.16	117.80 ± 11.48*
100ng/ml	104.12 ± 9.21	122.15 ± 2.81*	122.36 ± 1.88*

* : different from control, p<0.05



Fig. 1. 1 day after cultivation with 10ng/ml of 1,25-Dihydroxyvitamin D₃. (X100)



Fig. 2. 3 days after cultivation with 100ng/ml of 1,25-Dihydroxyvitamin D₃. (X100)

농도의 1,25-Dihydroxyvitamin D₃ 첨가시 101.56 ± 8.46, 25ng/ml 농도에서는 104.79 ± 3.43, 50 ng/ml 에는 104.05 ± 7.78, 100ng/ml 에는 104.12 ± 9.21으로 농도와 관련없이 치주인대세포의 활성은 대조군과 차이가 없었다(Fig. 1).

배양 2일째에는 10ng/ml에서 104.93 ± 1.60, 25ng/ml에서는 111.79 ± 9.74, 50ng/ml에서는 109.09 ± 2.16, 100ng/ml에서는 122.15 ± 2.81로 농도에 따라 세포 활성이 증가하는 경향을 보였으나 100ng/ml농도에서 만 대조군과 비교해 유의한 차가 있었다(p<0.05).

배양 3일째에는 10ng/ml에서 100.25 ± 3.02, 25ng/ml에서는 108.23 ± 5.93으로 대조군과 차이가 없었으나 50ng/ml에서는 117.80 ± 11.48, 100ng/ml에서는 122.36 ± 1.88으로 유의하게 증가되었다(p<0.05)(Fig. 2).



Fig. 3. Microphotography of control side at 12 hours, revealing tearing of periodontal ligament at pressure side. (H & E, X 100)

Table 2. Histopathologic Findings in Tension Side of Periodontal Ligament

	Tearing of PDL		Osteoblastic activity		Vascular dilatation	
	control side	Vit. D3 side	control side	Vit. D3 side	control side	Vit. D3 side
12 hours	±	±	±	±	+	+
24 hours	+	+	±	±	+	+
36 hours	++	++	±	±	+	+
48 hours	++	++	±	±	++	++
72 hours	+	+	±	±	+	+
7 days	±	±	+	+	+	+

(±; rare, +; mild, ++; moderate)



Fig. 4. Microphotography of 1,25-Dihydroxyvitamin D₃ injection side, at 24 hours, shows alveolar bone resorption by osteoclasts at pressure side. (Goldman's Masson Trichrome stain, X 100)



Fig. 6. Microphotography of 1,25-Dihydroxyvitamin D₃ injection side at 36 hours. There is no difference in inflammatory cell infiltration, osteoblastic activity and capillary proliferation between control side and 1,25-Dihydroxyvitamin D₃ side at tension side. (Goldman's Masson Trichrome stain, X 40)



Fig. 5. Microphotography of control side in tension side at 24 hours shows widening and capillary proliferation of periodontal ligament. (Goldman's Masson Trichrome stain, X 40)

2. 백서에서의 조직병리학적 관찰

가. 견인측 치주조직변화 (Table 2)

12시간째의 각 실험군의 대조측은 치주인대가 무질서하게 배열되어 있었고, 경도의 혈액유출이 관찰되었으며 신생골 형성은 관찰되지 않았다(Fig. 3). 1,25-Dihydroxyvitamin D₃ 투여한 견인측에도 파골세포에 의한 골흡수가 치경부 1/3에서 관찰되었다.

24시간째에 대조측은 12시간째보다 치주인대 간격이 넓어지면서 치주인대의 무질서함이 증가되었으며 조골세포의 활성은 미약했다(Fig. 5). 36시간째에는 치근단에 모세혈관 파열 및 확장이 증가되고 조골세



Fig. 7. Microphotography of 1,25-Dihydroxyvitamin D₃ injection side at 48 hours reveals numerous osteoclasts at cervical portion of tension side. (H & E, X 40)



Fig. 9. Microphotography of control side at 72 hours shows disappearance of hyalinized zone at pressure side. (H & E, X 100)

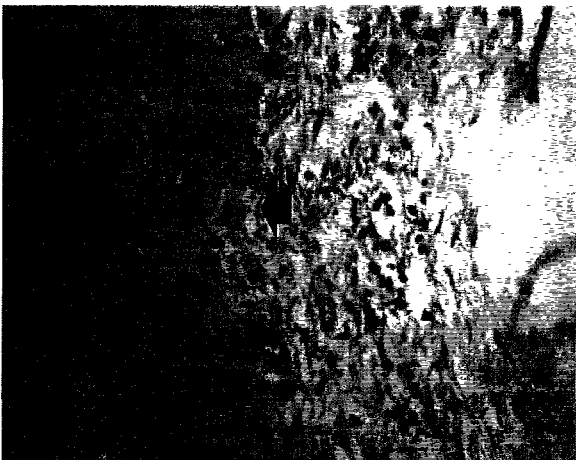


Fig. 8. High-power magnification of Fig 7. (H & E, X 200)

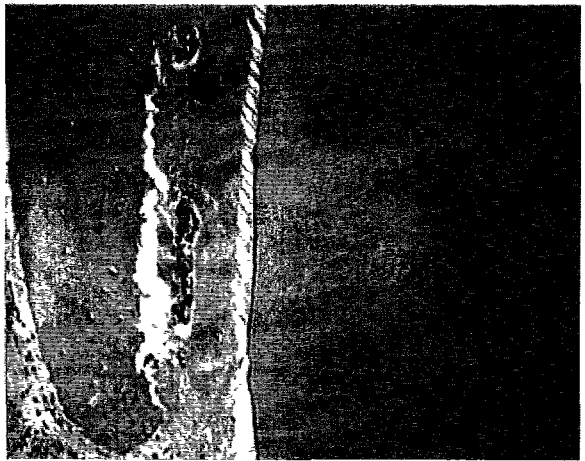


Fig.10. Microphotography of 1,25-Dihydroxyvitamin D₃ injection side at 72 hours remains cell free zone or hyalinized zone at pressure side. (H & E, X 100)

포의 활성화는 미약하였다(Fig. 6). 48시간째에도 치주인대의 파열 및 모세혈관 확장이 36시간째와 큰 차이가 없었으며 72시간째에는 치주인대 부위의 혈관충혈 및 혈액유출이 잔존되어 있었다. 7일째에는 조골세포 활성화증가로 신생골 형성이 약간 관찰되기 시작하였고 치근단 부위의 혈관의 충혈 및 혈액유출이 잔존되었다.

각 조직 변화 양상에 있어서 대조측과 1,25-Dihydroxyvitamin D₃ 투여한 견인측 간의 차이는 어느 시간대에서도 별로 인정되지 않았다.

나. 압박측 치주조직 변화 (Table 3)

12시간째에 대조측은 치주인대 간격이 좁아졌고 경미한 치조골 흡수가 파골세포에 의해 이루어졌고 초자양변성은 미약하게 관찰되었으며 1,25-Dihydroxyvitamin D₃ 투여측과의 차이는 미약하였다(Fig. 4).

24시간째에는 대조측의 치주인대 간격이 더욱 넓어졌고 모세혈관 증식 및 치조골 흡수상태가 12시간째에 비해 많이 나타났으며 초자양변성이 12시간째

Table 3. Histopathologic Findings in Pressure Side of Periodontal Ligament

	Hyalinization of PDL		Osteoclastic activity		Infl. cell infiltration	
	control side	Vit. D ₃ side	control side	Vit. D ₃ side	control side	Vit. D ₃ side
12 hours	±	±	±	±	+	+
24 hours	+	+	+	++	+	+
36 hours	+	++	++	+++	++	++
48 hours	±	+	+	++	+	+
72 hours	±	+	+	+	+	+
7 days	±	±	+	+	±	±

(±; rare, +; mild, ++; moderate, +++; severe)



Fig. 11. Microphotography of 1,25-Dihydroxyvitamin D₃ injection side at 7 days. (Goldman's Masson Trichrome stain, X 40). Nasal septum and tension side of periodontal ligament was noted.



Fig. 12. Microphotography of 1,25-Dihydroxyvitamin D₃ injection side at 7 days shows rearrangement of periodontal ligament at pressure side. (Goldman's Masson Trichrome stain, X 100)

에 비해 증가되었으나 1,25-Dihydroxyvitamin D₃ 투여측과의 차이는 미약하였고 파골세포의 출현이 상대적으로 1,25-Dihydroxyvitamin D₃ 투여측에서 많았다.

36시간째에는 대조측의 파골세포에 의한 치조골 흡수가 최대로 나타났고 치주인대 섬유배열의 무질서함과 폭경 감소가 현저히 나타났고 초자양변성도 잔존되었으며 1,25-Dihydroxyvitamin D₃ 투여측의 초자양 변성이 대조측에 비해 많이 나타났으며 파골세포출현도 많이 관찰되었다.

48시간째에는 36시간째와 유출된 혈액 염증세포의 출현이 큰 차이가 없었고 초자질화대와 파골세포침

윤이 1,25-Dihydroxyvitamin D₃ 투여측이 대조측에 비해 많았다(Fig. 7,8).

72시간째의 치근단에는 유출된 혈액이 잔존되었고 파골세포도 감소되었으나 염증세포침윤은 1,25-Dihydroxyvitamin D₃ 투여측과 차이가 없었으나(Fig. 9), 1,25-Dihydroxyvitamin D₃ 투여측에서 초자질화대가 잔존되었다(Fig.10).

7일째에는 대조측의 경우 아직 무질서함이 관찰되며 골흡수상은 3일째에 비해 현저히 감소되었고 1,25-Dihydroxyvitamin D₃ 투여측과의 차이는 거의 없었다(Fig.11,12).

IV. 총괄 및 고찰

골조직은 세포외기질과 여러 종류의 세포들을 포함하고 있는 복잡한 조직으로서 일생동안 흡수가 계속적으로 일어나는 동적인 조직이다. 교정치료시 치아의 이동은 치주인대세포를 매개로 골조직의 개조가 일어나는 과정으로서, 교정력이 어떻게 전달되어 골개조라는 결과로 나타나는지에 대한 정확한 기전을 알려져 있지 않으나 치아이동은 궁극적으로 골개조의 과정에 관여하는 세포들의 활성화에 의존하는 것으로 생각되고 있다¹⁶⁾. 따라서 골개조 현상에 대한 연구에 있어 기존의 치조골 자체에만 국한되지 않고 치주인대세포가 어떤 역할을 할 것이라는 가정하에 연구가 지속되고 있다.

Nojima등¹⁹⁾은 치주조직과 치주인대세포에서 높은 ALP 활성도를 보이며 조골세포로 확인할 수 있는 표지자인 bone *gla* protein을 치주인대세포가 합성할 수 있는 것으로 보아 치주인대세포는 조골세포나 백악아세포로 분화할 수 있으며 전형적인 조골세포의 표현형을 가지고 있다고 하였다. Somerman등²⁰⁾은 치주인대세포를 배양하여 여러 약제에 의한 cyclic-AMP의 양과 단백질 합성능 및 형성되는 단백질 종류에 대하여 실험해 본 결과 치주인대세포는 다소 조골세포와 유사한 양상을 띠고 있으나 전형적인 조골세포의 기능을 하지는 않는다고 하여 다소 상반된 견해를 보고한 바도 있다.

이와같이 치주인대는 치은 결체조직과는 달리 골형성 능력이 있는 세포들이 잔재해 있을 것으로 생각되어 왔으며²¹⁾, Gould등은 치주인대 조직내의 혈관 주변에 미분화된 전구세포를 관찰할 수 있다고 하였고^{22,24)}, Aukhil등²⁵⁾은 치주인대 내에 있는 전구세포는 치아의 상아질과 접촉시 백악아세포와 같은 재생 능력이 있는 세포로 분화한다고 하였다. McCulloch등²⁴⁾은 [³H]-thymidine을 이용한 자기방사법으로 치주인대 내에 존재하는 조골세포와 백악아세포의 전구세포 중 적어도 일부는 골내강에서 유래하여 치주인대내로 이주해 간다고 주장하였다.

Vitamin D₃는 cholecalciferol으로도 불리우는 물질로서 음식을 통해서 직접 Vitamin D₃가 흡수되기도 하지만 대부분은 7-dehydrocholesterol의 상태로 흡수되어 피부에 운반되면 자외선을 받아 Vitamin D₃로 전환된다. Vitamin D₃는 간에서 25-hydroxy-cholecalciferol로 전환되고, 1,25-hydroxycholecalciferol은 신장을 순환하는 동안에 1,25-dihydroxycho-

lecalciferol [1,25-(OH)₂D₃]로 전환된다. 신장에서 형성된 1,25-Dihydroxyvitamin D₃는 매우 생리적으로 활성을 띠는 물질로서 장과 신장에서 칼슘 흡수에 관여하여 체내 칼슘과 인산 농도를 조절하는 기능을 가진 것으로 알려져 있다^{26,27)}. 또한 1,25-Dihydroxyvitamin D₃는 vitamin D₃의 가장 강력한 metabolite로서 골에 있어서 칼슘과 인의 이동에 중요한 역할을 담당하고 있으며 골세포에서 ALP를 강력하게 자극하는 것으로 알려져 있다^{13,28)}.

골에서의 1,25-Dihydroxyvitamin D₃의 효과에 대해, Beresford등¹³⁾은 사람의 골세포에서 제1형 교원질과 ALP 활성을 증가시키고, Endo등¹⁵⁾은 *in vitro*에서 골형성을 촉진한다고 하였다. 그러나 Chen등²⁶⁾은 생쥐와 백서의 골세포 증식을 억제하는 것으로 보고하였다. ALP 활성은 1,25-Dihydroxyvitamin D₃에 의해서 조절되는데 1,25-Dihydroxyvitamin D₃가 부족한 경우에는 골기질 합성과 연골 성장의 억제와 골형성이 지연된다고²⁹⁾ 하였으며, Erben등³⁰⁾과 Nakamura등³¹⁾은 골세포 분화시에는 생리적인 농도가 중요한데 vitamin D₃ 대사물의 적정농도로 동물 모델에서 골소실을 예방할 수 있다고 하였다. 이와같이 1,25-Dihydroxyvitamin D₃가 골세포에서 매우 다양한 반응을 보이는 것은 실험동물 종의 차이와 세포의 기원, 그리고 세포의 밀도와 1,25-Dihydroxyvitamin D₃ 첨가 기간 등 세포배양계의 차이에 의한 것으로 생각된다.

본 실험에서도 배양된 치주인대세포에 1,25-Dihydroxyvitamin D₃를 첨가하여 치주인대세포의 활성을 관찰한 결과 10ng, 25ng/ml농도의 1,25-Dihydroxyvitamin D₃는 치주인대세포의 배양 1, 2, 3일에서 대조군과 활성차이가 없었으나 50ng/ml로 3일째 배양시 치주인대세포의 활성은 유의하게 증가되었으며 100ng/ml 농도에서는 배양 2일, 3일째에 유의하게 증가되어 1,25-Dihydroxyvitamin D₃ 농도와 배양기간에 비례하였다.

교정적 치아이동이 일어나는 정확한 세포학적 기전에 관한 학설에는 압력인장가설, 혈류장애설, 정수압 같은 치주인대 개념 등이 연구되어 왔고 골흡수와 침착을 자극하는 세포에 의해 증명된다. 그러나 기계적인 자극이 골개조에 관여하는 세포의 활성화와 관계가 있는지는 명확하지 않다. 현재 기계적인 힘만으로 세포활성을 증가시키기보다는 기계적, 화학적, 전기적 자극을 병행하는 것이 골대사를 빠르게 하여 교정적 치아이동을 빠르게 한다고 Davidovitch등³²⁾, Ya-

masaki³³⁾, Stark과 Sinclair³⁴⁾ 등이 보고하였고 최근 연구는 골개조 과정에서의 파골세포의 역할에 집중되고있다.

파골세포는 혈류내의 단핵유사세포에서 기원하며^{35,36)}, prostaglandin을 국소적으로 주사하거나^{37,38)}, 두경부영역에 양전자기장을 조사하거나³⁴⁾, 국소적인 직류전하를 사용하여²⁾ 선택된 치아에 자극을 주어 치조골내의 파골세포의 활성 및 형성을 자극하는 기술이 성공적으로 이루어져왔다. 이런 방법이 기계적인 교정력만으로 치아이동하는 것보다 치아이동 속도를 상당히 빠르게 하지만 상당한 문제점이 발견되었다고 한다. 즉 prostaglandin이 파골세포에 특이적인 자극원으로 작용하기 보다는 일반적인 염증반응을 유발한다고 Chumbley와 Turcay³⁹⁾가 보고하였고 양전자기장은 골개조 활성을 자극하기 위한 비침윤적인 방법이지만 중추신경계에 부작용을 나타낼수 있다고 Bassett가 주장하였으며⁴⁰⁾, 직류 역시 조직손상 이온반응 및 골의 결합조직으로의 대치 등의 부작용을 보인다고 하였다.

인간의 칼슘 항상성 유지에 있어서 Vitamin D의 역할은 잘 알려져 있고 스테로이드 호르몬으로써 많은 표적 장기와 기관에 특이 수용기를 갖는다. 특히 골흡수 과정에서 이용될수 있는 단백질과 효소를 생산하기 위해 표적세포 내에 DNA와 RNA를 활성화시킴으로써 그 작용을 나타낸다^{41,42)}. 특히 vitamin D의 활성형인 1,25 dihydroxycholecalciferol은 파골세포 활성의 가장 잠재성 있는 자극원의 하나로 알려져 있고 혈장 내에서 반감기가 2-3시간이지만 세포활성효과는 수일 정도 지속될 수 있다고 한다. 또한 단핵전구세포로부터의 파골세포 형성에 관여하며 prostaglandin같은 다른 호르몬보다 낮은 농도에서 이런 효과를 발현할 수 있다고 하였다^{43,44)}.

1,25-Dihydroxyvitamin D₃는 골전구세포와 순환 단핵구의 핵에 직접 작용하며 이는 cyclic nucleotide cascade에 특이 수용기가 있어 독립적으로 세포활성을 이룰 수 있다고 하였다^{45,46,47)}. 조직학적으로 Collins¹⁴⁾는 1,25-Dihydroxyvitamin D₃ 투여 6시간에 단핵파골세포의 유입을 볼 수 있으며 이는 정상 흡수세포의 출현시기보다 빠른 것으로 실험 치아에 2주동안 치아이동의 lag phase가 감소되었기 때문이라고 설명하였다. 골흡수 동안에 단핵세포층의 출현은 과거에도 보고되었고 단핵세포가 융합되기 전 흡수기의 초기단계에서는 고활성세포이며 이것이 결국 거대파골세포로 바뀐다고 하였다. 단핵구성 골세포의 융합에

기여하는 것으로 알려진 국소적 변화 중에는 국소적 칼슘농도의 변화, pH 감소등이 알려졌다⁴⁸⁾ 교정적 치아이동시에 rate-limiting step은 파골전구세포의 출현 시기일 수 있다. 따라서 1,25-Dihydroxyvitamin D₃가 적절한 치조골흡수를 증가시키는데 가장 효율적인 것처럼 여겨진다고 주장하였다¹⁴⁾.

교정력에 의한 치조골의 반응은 정상적인 골개조에서 관찰되는 소견과 유사한 것으로 여겨지고 있어 골개조 과정의 활성화는 수시간내 이루어지며 흡수는 한달간 계속되고 다양한 반전기를 거친 다음 골형성이 2달에서 3달까지 지속된다고 하였다^{49,50)}.

본 연구에서는 백서에 교정력을 가한 후 인장측의 골아세포 활성, 치주인대섬유의 파열, 모세혈관 증식에 있어 1,25-Dihydroxyvitamin D₃ 투여측과 대조측 간에는 차이가 없어 1,25-Dihydroxyvitamin D₃가 골아세포 및 혈관증식에 영향을 주지 않는 것으로 생각되었다.

Goldman's M.T염색은 교원섬유질의 변화 등을 관찰하는데 이용되며 특히 collagen disease의 진단에 도움을 준다. 또한 신생골은 골아세포층에 둘러싸인 적색으로 보이며 골내의 청색이 광물질화를 나타낸다고 하여⁵¹⁾ 본 연구에서도 modified Masson Trichrome염색으로 교원질 형성 및 신생골을 평가하고자 하였으나 7일까지 뚜렷한 신생골 형성 및 광물질화가 관찰되지 않았다.

Reitan⁵²⁾은 교정력이 가해진 지 수 시간내에 파골세포의 수가 증가되며 교정력을 제거한 후에도 쥐에서는 수일, 사람에서는 10일까지도 파골세포가 잔존한다고 하였다. 또한 Miura와 Kurihara⁵³⁾는 치아이동시 압박측에서 12시간에 파골세포가 나타나서 7일간 존재하며 골흡수는 21일까지 지속되고 골침가는 21일부터 시작한다고 하였다. 본 연구에서는 대조군의 경우 12시간째에 나타나서 3일째에 최고조에 달하다가 7일째까지 잔존되었으며 이후에는 미미한 양상을 보여 Miura와 Kurihara⁵³⁾의 연구와 유사한 소견을 보였고 교정력을 가한 후 24시간, 36시간, 48시간에서 1,25-Dihydroxyvitamin D₃를 압박측, 압박측과 인장측에 투여한 군이 대조군보다 파골세포활성 및 치조골 흡수량이 많이 관찰되어, 교정적 치아이동시 백서의 치주인대내에 1,25-Dihydroxyvitamin D₃를 국소적으로 투여한 결과 압박측에서 치조골 흡수가 많다는 Collins와 Sinclair¹⁴⁾의 보고와 일치하였다. 또한 투여 12시간에 인장측에 주사한 실험군에서 인장측에도 파골세포가 출현한 특이한 소견은 파골세포 출

현의 국소적인 인자라는 증거로 생각되었다.

Macapantan 등⁵⁴⁾은 교정력을 받은 압박측 치주인대에 초자양변성이 초래된다고 하였으며, Kvam⁵⁵⁾도 광범위한 초자양변성은 치아이동을 지지시키며 치근흡수를 초래할 수 있다고 주장하였으며, 치주인대에 초자양변성이 일어나는 현상은 교원섬유의 분해와 불규칙한 배열에 의한 것이라고 하였다. Reitan⁵²⁾은 초자양변성 부위에 대한 H & E 염색에서 교원섬유가 주위의 기질과 융합된 것으로 관찰되나 위상차현미경에서는 교원섬유가 변질되지 않은 소견을 보인다고 하였다. 압박측 치주인대에서의 초기세포 변화에 대하여, 교정력을 받은지 1시간 후에 또는 교정력을 받은지 6시간 후에, 조섬유세포의 핵농축을 보고하여 세포의 변성과 괴사가 세포핵으로부터 일어나기 시작하였음을 보고하였고⁵⁶⁾, 초자양변성이 일어나는 시기에 대하여, 인간에서는 교정력을 가한 지 30-40시간⁵²⁾, 백서에서는 6시간 후에⁵⁶⁾ 또는 3-6시간 후에 관찰된다고 하였다.

압박측 치주인대의 초자양변성은 사용한 교정력의 크기에 관계없이 발생하며 교정력이 약해지면 변성 범위가 좁고, 실험동물의 치조골 치밀도가 높을수록 빨리, 넓게 초자양변성이 발생한다고 하였다²⁶⁾. 본 연구에서는 실험군 모두 12시간째에 관찰되기 시작하여 교정력을 가한 후 3일까지 1,25-Dihydroxyvitamin D₃를 투여한 측이 대조측보다 초자질화대가 많이 잔존되었다. 이러한 소견은 교원섬유의 분해와 불규칙한 배열때문에 발생하는 것으로 여겨지며 Kvam⁵⁵⁾이 초자질화대가 치근흡수를 일으킬 수 있다는 주장과 일치하여 1,25-Dihydroxyvitamin D₃가 파골세포에 작용을 하는 것으로 서로 상호작용하는 것으로 생각된다. 또한 1,25-Dihydroxyvitamin D₃는 교정적 치아이동물을 빠르게 하여 그의 임상적 적용 가능성을 Collins와 Sinclair¹⁴⁾가 제시하였지만 1,25-Dihydroxyvitamin D₃의 최적 용량, 주입 횟수, 장기간 효과에서 잠재적인 국소 및 전신적 부작용에 대한 주의깊은 배려가 필요하다고 하였다.

이상의 결과를 종합해 보면 1,25-Dihydroxyvitamin D₃가 치주인대세포의 증식과 표현형 발현을 촉진시켜 골조직 성장 및 개조에 중요한 조절기능을 나타낼 것으로 생각되나 여러 실험조건에 따라 그 효과가 다양하고 생체에서의 그 역할이 정확히 규명되지 않았기 때문에 1,25-Dihydroxyvitamin D₃와 제1형 교원질, osteocalcin 활성도에 관한 계속적인 연구가 필요하리라 생각된다.

V. 결 론

교정치료시 치아이동은 치주인대세포를 매개로 골조직의 개조가 일어나는 과정으로서 골조직의 성장과 개조는 조골세포, 파골세포 및 그 전구세포의 증식, 분화 및 활성화에 영향을 미치는 여러가지 전신적 인자와 국소적 인자에 의하여 조절되고 있다. 1,25-Dihydroxyvitamin D₃는 vitamin D₃의 대사물로서 경조직에 있어서 칼슘과 인산의 이동에 중요한 역할을 담당하고 있는 것으로 알려져 있으나 치주인대에 대한 1,25-Dihydroxyvitamin D₃의 생물학적 기능은 잘 알려져 있지 않다.

1,25-Dihydroxyvitamin D₃가 치주인대세포의 활성화에 미치는 영향을 관찰하고자 10, 25, 50, 100ng/ml 농도의 1,25 Dihydroxyvitamin D₃를 배양 치주인대세포에 첨가하여 배양 1, 2, 3일 후 M.T.T. 방법으로 세포의 활성을 관찰하였으며, 백서의 실험적 치아이동시 치주인대 내에 1,25-Dihydroxyvitamin D₃를 투여하여 12, 24, 36, 48, 72시간 및 7일 후의 조직 변화 소견을 관찰하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 10ng, 25ng/ml 농도의 1,25-Dihydroxyvitamin D₃를 치주인대세포에 가한 후 배양 1, 2, 3일째의 실험군 활성은 대조군과 차이가 없었다.
2. 50ng/ml 농도의 1,25-Dihydroxyvitamin D₃를 치주인대세포에 가한 후 배양 3일째의 활성은 대조군에 비하여 유의하게 증가되었으며 100ng/ml 농도에서는 배양 2, 3일째에 유의하게 많았다.
3. 백서에 교정력을 가한 후 인장측에서의 골아세포 활성, 치주인대섬유의 파열, 모세혈관 증식은 투여 후 7일까지 1,25-Dihydroxyvitamin D₃ 투여측과 대조측 간에 차이가 없었다.
4. 교정력을 가한 후 36시간부터 1,25-Dihydroxyvitamin D₃를 투여한 압박측의 파골세포 활성 및 치조골 흡수량이 증가하였다.

이상과 같은 결과로, 50-100ng/ml 농도에서 1,25-Dihydroxyvitamin D₃의 농도와 배양 기간에 비례하여 치주인대세포의 활성이 증가하였으며 1,25-Dihydroxyvitamin D₃가 투여 36시간부터 파골세포의 활성과 그에 따른 치조골 흡수량 증가에 영향을 미쳤다고 사료된다.

참 고 문 헌

1. Heuttner RJ, Whitman CL: Tissue changes occurring in the Macaque Rhesus monkey during orthodontic movement. *Am J Orthod*, 44:328-345, 1958.
2. Kahn AJ, Partridge NC: New concepts in bone remodeling: An expanding role for the osteoblast. *Am J Otolaryngol*, 8:258-252, 1987.
3. Martin Tj, Kew Ng, Suda T: Bone cell physiology. *Endocrinol Met Clin N Am*, 18:833-858, 1989.
4. Nijweide PJ, Burger EH, Feyen JHM: Cell of bones: Proliferation, Differentiation, and Hormonal Regulation. *Physiol Rev*, 66:855-886, 1986.
5. Canalis E, McCarthy TL, Centrella M: The role of growth factors in skeletal remodeling. *Endocrin Metabol Clin N Am*, 18:903-908, 1989.
6. Raisz RZ: Hormonal regulation of bone growth and remodeling. *Ciba Foundation Symposium*, 136:226-238, 1988.
7. Raisz LG, Kream BE: Regulation of bone formation. *N Engl J Med*, 309:29-35, 1983.
8. Raisz RZ: Recent advances in bone cell biology: interactions of vitamin D with other local and systemic factors. *Bone Mineral*, 9:191-197, 1990.
9. Limeback H, Sodek J, Aubin JE: Variation in collagen by cloned periodontal ligament cells. *J Periodont Res*, 18:242-248, 1982.
10. Maeder CL, Carnes DL, Graves DT: Alkaline phosphatase and osteocalcin levels in cells from periodontal ligament. *J Dent Res*, 67:232 Abst.No.958, 1988.
11. Piche JE, Catnes DL, Graves DT: Characterization of non-fibroblast cell population derived from human periodontal ligament. *J Dent Res*, 66:356, Abst.No.1989, 1987.
12. Piche JE, Canes Jr DL, Graves DT: Initial characterization of cells derived from human periodontium. *J Dent Res*, 68:761-767, 1989.
13. Collins MK, Sinclair PM: The local use of vitamin D to increase the rate of orthodontic tooth movement. *Am J Orthod Dentofac Orthop*, 94:278-284, 1988.
14. Beresford JN, Gallagher JA, Russell RG: 1,25-Dihydroxyvitamin D₃ and human bone derived cells *in vitro*: Effects on alkaline phosphatase, type I collagen and proliferation. *Endocrinology*, 199:1776-1785, 1986.
15. Endo H, Kitoki M, Kawashima K, Naruchi T, Hashimoto Y: Vitamin D₃ metabolites and PTH synergistically stimulate bone formation of chick embryonic femur *in vitro*. *Nature*, 286:262-264, 1980.
16. Reitan K: Tissue rearrangement during retention of orthodontically rotated teeth. *Angle Orthod*, 29:105-113, 1959.
17. Rygh P: Periodontal response to tooth-moving force, In *Orthodontics: State of the art essence of science*, edited by Grber LW, Mosby, St. Louis, Toronto, London, 10-115, 1986.
18. Roberts WE, Goodwin WC, Heiner SR: Cellular response to orthodontic force. *Dent Clin of North Am*, 25, 3-17, 1981.
19. Nojima N, Kobayashi M, Shionome M, Takahashi N, Suda T, Hasegawa K: Fibroblastic cells derived from bovine periodontal ligaments have the phenotypes of osteoblasts. *J Periodont Res*, 25:179-185, 1990.
20. Somerman MJ, Archer SY, Imm GR, Foster RA: A comparative study of human periodontal ligament cells and gingival fibroblasts *in vitro*. *J Dent Res*, 67:66-70, 1988.
21. Mariotti A, Cochran DI: Characterization of fibroblasts derived from human periodontal ligament and gingiva. *J Periodontol*, 61:103-111, 1990.
22. Davison L, McCulloch CAG: Proliferative behavior of periodontal ligament cell populations. *J Periodont Res*, 21:414-428, 1986.
23. Gould TRL, Melcher AH, Brunette DM: Migration and division of progenitor cell populations in periodontal ligament after wounding. *J Periodont Res*, 15:20-42, 1980.
24. McCulloch CAG, Nementh E, Lowenberg B and Melcher AH: Paravascular cells in endosteal spaces of alveolar bone contribute to periodontal ligament cell populations. *Ant Rec*, 219:233-242, 1987.
25. Aukhil I, Simpson DM, Suggs C, Petterson E: *In vivo* differentiation of progenitor cells of the periodontal ligament: An experimental study using physical barriers. *J Clin Periodontol*, 13:862-868, 1986.
26. Chen TL, Cone Cm, Feldman D: Effects of 1,25-dihydroxyvitamin D₃ and glucocorticoids on the growth of rat and mouse osteoblast-like cells. *Calcif Tissue Int*, 35:806-811, 1983.
27. Farley JR, Taylor AK, Baylink DJ: PTH and 1,25-(OH)₂D₃ can modulate the effect of a putative skeletal coupling factor *in vivo*. *Calcif Tissue Int*, 34:538(abstract), 1982.
28. Franceschi RT, Park KY, Romano PR: Regulation of type I collagen synthesis by 1,25-dihydroxyvitamin D in human osteosarcoma cells. *J Biol Chem*, 262:4165-4170, 1988.
29. Bikle DD, Morrissey RL, Zolock DT, Rasmussen H: The intestinal response to vitamin D. *Rev Physiol Biochem Pharmacol*, 89:63-67, 1981.
30. Erben RG, Weister J, Sinowatz F, Rambeek WA, Zucker H: Vitamin D metabolites prevent vertebral osteopenia in ovariectomized rats. *Calcif Tissue Int*, 50:228-236, 1992.
31. Nakamura T, Nagai Y, Yamato H, Suzuki K, Orimo H: Regulation of bone turnover of prevention of bone atrophy in ovariectomized beagle dogs by the administration of 24,25 (OH)₂D₃. *Calcif Tissue Int*, 50:221-227, 1992.
32. Davidovitch A, Fjinkelson MD, Steigman S, Shanfield J, Montgomery P, Korostoff E: Electric currents, bone remodeling, and orthodontic tooth movement. *Am J Orthod*, 77:33-47, 1980.
33. Yamasaki K, Shibata Y, Imia S, Tani Y, Shibusaki Y, Fukuhara T: Clinical application of prostaglandin E1 upon orthodontic tooth movement. *Am J Orthod*, 85:508-518, 1984.

34. Stark T, Sinclair P: The effect of pulsed electromagnetic fields on orthodontic tooth movement. *Am J Orthod*, 91:91-104, 1987.
35. Hancox NM: The osteoclasts. *Biol Rev*, 24:448-469, 1949.
36. Jee WSS, Nolan PD: Origin of osteoclasts from the fusion of phagocytes. *Nature*. 200:225-225, 1963.
37. Yamasaki K, Shibata Y, Fukuhuyra T: The effects of prostaglandin on experimental tooth movement in monkeys. *J Dent Res*, 62:1444-1446, 1982.
38. Yamasaki K: The role of cyclic AMP, calcium, and prostaglandins in the induction of osteoclastic bone resorption associated with experimental tooth movement. *J Dent Res*, 62:877-891, 1983.
39. Chumbly BA, Turcay OH: The effect of indomethacin on the rate of orthodontic tooth movement. *Am J Orthod*, 89:312-324, 1989.
40. Bassett C: Pulsing electromagnetic fields. A new approach to surgical problems. In Burwald H, Vargo R. eds. *Metabolic Surgery*. New York, Grune & Stratton, 255-306, 1978.
41. Norman AW: Actinomycin D and the response to vitamin D. *Science*. 149-184, 1965.
42. Norman AW: Vitamin D: the calcium homeostatic hormone. New York, Academic Press, 199-245, 1979.
43. Reynolds JJ, Hollick MF, Deluca HF: The role of vitamin D metabolites in bone resorption. *Calcif Tissue Res*, 12:295-301, 1973.
44. White J, Lielain M, Helenus A: Membrane fusion proteins of enveloped animal virus. *Rev Biophys*, 151:195, 1983.
45. Rubin J, Catherwood BD: 1,25 Dihydroxyvitamin D₃ causes attenuation of cyclic AMP responses in monocyte-like cells. Abstract from the 6th annual meeting of the American Society of Bone & Mineral Research. Hartford, Connecticut, 1984.
46. Rodan G, Majeska A: Phenotypic maturation of osteoblastic osteosarcoma cells in culture. In Kelly RO, Goetnik PF. eds. *Lim development and regeneration*. Part 13, New York, Alan Liss. 249-259, 1983.
47. Baron R, Vignery A, Horowitz M: Lymphocytes, macrophages and the regulation of bone remodelings. In Peck W. ed. *Bone and mineral Research*. Annual 2. New York, Elsevier, 178-182, 1984.
48. Baron R, Neff L, Tran Van P, Vignery A: Cytochemical identification, kinetics and differentiation of osteoclast precursors in the rat. *J Cell Biol*, 95:38a, 1982.
49. Somerman MJ, Prince CW, Sauj JJ, Foster RA, Butler WT: Mechanism of fibroblast attachment to bone extracellular matrix: Role of a 44 kilodalton bone phosphoprotein. *J Bone Mineral Res*, 2:259-265, 1987.
50. Roberts WE, Goodwin WC, Heiner SR: Cellular response to orthodontic force. *Dent Clin North Am*, 25:5-17, 1981.
51. Sheehan DC, Hrapchak BB: *Theory and practice of Histo-technology*. 2nd ed. CV Mosby Co, St. Louis, 189-191, 1981.
52. Reitan K: Tissue behavior during orthodontic tooth movement. *Am J Orthod*, 46:881-900, 1960.
53. Miura F, Kurihara S: Alveolar bone reaction caused by orthodontic stimulus. *Dent Outlook*. 61:1231-1242, 1983.
54. Macapantan LC, Weinmann JP, Brodie AG: Early tissue changes following tooth movement in rats. *Angle Orthod*, 24:79-95, 1954.
55. Kvam E: Cellular dynamics on the pressure side of the rat periodontium following experimental tooth movement. *Scand J Dent Res*, 80:369-383, 1972.
56. Zaki AE, Huysen GV: Histology of the periodontium following tooth movement. *J Dent Res*, 42:1373-1379, 1963.

- ABSTRACT -

The Effect of 1,25-Dihydroxyvitamin D₃ on the Viability of Periodontal Ligament Cells and the Experimental Tooth Movement in Rats

Sung-Woo Kim, D.D.S., Dong-Kwon Park, D.D.S., M.S.D., Sang-Cheol Kim, D.D.S., M.S.D., Ph.D.

Department of Orthodontics, College of Dentistry, Wonkwang University

Vitamin D is known to exert its action by activating DNA and RNA within target cells to produce proteins and enzymes that can be used in bone resorption process. Particularly, the active form of vitamin D, 1,25-dihydroxycholecalciferol [1,25-(OH)₂D₃], is considered to be one of the most potent stimulators of osteoclastic activity *in vitro*.

The purpose of this study was to evaluate the effect of 1,25-Dihydroxyvitamin D₃ on the activity of periodontal ligament cells and the experimental tooth movement.

Human periodontal ligament cells were collected from the first premolar tooth extracted for the orthodontic treatment, and were incubated in the environment of 37°C, 5% CO₂ and 95% humidity. Microtitration(MTT) assay was done at 10, 25, 50 and 100ng/ml of 1,25-Dihydroxyvitamin D₃

21 Sprague-Dawley rats were divided into a control group(3), and experimental groups(18) where 100g of force from helical spring was applied across the maxillary incisors. 1,25-Dihydroxyvitamin D₃ was injected into periodontal ligament at the mesial or distal surface of maxillary incisors so that we can compare the control side and the experimental side. Experimental groups were sacrificed at 12, 24, 36, 48, 72hours and 7 days after force application, respectively. And the obtained tissues were evaluated histologically.

The observed results were as follows.

1. The activity of periodontal ligament cells in 10ng/ml or 25ng/ml of 1,25-Dihydroxyvitamin D₃ was not significantly different to the control at the cultivation of 1, 2 and 3 days.
2. The activity of periodontal ligament cells was significantly increased at 3 days in 50 ng/ml of 1,25-Dihydroxyvitamin D₃ and 2, 3 days in 100ng/ml of 1,25-Dihydroxyvitamin D₃.
3. Up to 7 days after force application, there was no difference in osteoblastic activity, tearing of periodontal ligament and proliferation of capillary at tension side between 1,25-Dihydroxyvitamin D₃ injection side and the control side.
4. The osteoclastic activity and the resorption of alveolar bone was greater in 1,25-Dihydroxyvitamin D₃ injection side than the control side at 36 hours after force application.

KOREA. J. ORTHOD. 1997 ; 27 : 335-347

※ **Key words** : Vitamin D, Periodontal ligament cells, Experimental tooth movement, Cellular activity.