

흰쥐의 발치외에 이식한 단계별 치아쌍의 발육 과정

정희훈 · 정한성* · 김성오 · 최형준 · 이제호 · 최병재

연세대학교 치과대학 소아치과학교실 · *구강생물학교실 · 구강과학연구소

국문초록

외상이나 치주 질환, 유전적 결함 등에 의하여 치아가 상실되었을 경우, 보철 수복이나 임플란트로 치료하고 있다. 그러나 보철 수복이나 임플란트는 자연치가 아닌 인공치를 이용한 치료로서 기능성과 심미성 등에서 자연치에 비하여 한계가 있으므로 자연치를 이용한 이식 방법에 관심이 증가하고 있으며 치아 이식의 성공률을 높이기 위한 이식 치아의 발육과 성장에 대한 연구가 진행 중이다.

이 연구는 세 가지 단계의 치아쌍을 발치외에 동종 이식하고 치아쌍이 발육하여 석회화가 이루어지는지 평가하기 위하여 임신 15일과 17일, 출생 후 3일 된 흰쥐의 치아쌍을 분리하여 11주 된 흰쥐의 발치외에 이식하고 4주와 8주 후 방사선학적 그리고 병리조직학적으로 석회화 과정을 관찰하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 발치외에 이식된 임신 15일과 17일, 출생 후 3일 된 치아쌍에서 4주와 8주 후 석회화된 조직이 형성되었다.
2. 임신 15일과 17일, 출생 후 3일 된 치아쌍을 발치외에 이식하고 4주 후 치아종 같은 비정상적인 석회화 조직과 인접 치조골과 유착된 골양상아질이 관찰되었다.
3. 임신 15일과 17일 된 치아쌍을 발치외에 이식하고 8주 후 골양상아질이 보였으며 치주인대로 둘러싸인 것도 관찰되었다.
4. 출생 후 3일 된 치아쌍을 발치외에 이식하고 8주 후 골양상아질과 백악질이 형성되었다.

이 연구는 치아쌍을 흰쥐의 발치외에 이식한 후 치아쌍의 발육을 관찰한 것으로 이식 조직에서 크기가 작고 무정형의 석회화 조직이 형성되었다. 정상적인 치아보다 형태가 불규칙하고 발육이 늦었으므로 이식된 치아쌍이 정상적인 치아 형태로 석회화되도록 하기 위해서는 이식 조직의 발육 정도와 이식 조직을 절제할 때 외과적 손상의 감소, 치아쌍으로의 풍부한 혈류 공급, 이식 기간, 이식 조직의 고정을 고려하여 더 많은 연구가 필요할 것으로 생각된다.

주요어 : 동종 이식, 치아쌍, 치아 발생

I. 서론

치아의 상실은 물리적인 외상이나 치주 질환, 치아 우식증, 유전적 결함 등에 의해서 일어날 수 있으며 이로 인해 저작 장애와 자신감의 상실, 부정교합 등이 발생할 수 있다. 지난 반세

기 동안 예방치과학과 보존학, 근관치료학의 급격한 발전으로 우식에 의한 치아의 상실은 많이 감소하였지만 현재에도 외상이나 치주 질환, 유전적 결함 등에 의한 치아 상실은 여전히 보철 수복을 필요로 하고 있다. 과거에는 상실된 부위에 동물의 치아 또는 상아, 골, 사체에서 얻은 치아, 타인의 치아 등을 인공치로 사용하였지만 많은 문제점을 갖고 있었으며, 최근에는 전통적인 고정성 보철물이나 의치 외에 임플란트나 자가 치아 이식이 상실된 치아를 대신하는 새로운 방법으로 도입되어 현재 임상에서 사용되고 있다. 그러나 고정성 보철물이나 임플란트는 자연치가 아닌 인공치를 이용한 수복으로 기능과 편의성

교신저자 : 최 병 재

서울특별시 서대문구 신촌동 134
연세대학교 치과대학 소아치과학교실
Tel: 02-2228-3174
E-mail: bjchoi@yuhs.ac

※ 본 연구는 2007년도 연세대학교 치과대학 교내연구비의 지원으로 이루어졌음.

등에 한계가 있어서 치아 이식에 대한 관심이 증가하고 있다.

치아 이식이란 치아를 원래의 위치가 아닌 다른 곳으로 옮기는 술식으로 수여부에 따라 자가 치아 이식, 동종 치아 이식과 이종 치아 이식으로 구분된다¹⁾. 치아 이식은 건강한 치아를 유지할 수 있는 장점이 있지만, 성공적인 치아 이식을 위해서는 이식 후의 치아 형성 및 발육에 대한 많은 지식이 필요하다.

건강한 치아쌍의 동종 이식²⁾과 재구성한 치성상피와 간엽으로 이루어진 치아쌍 성분의 이식을 통해서 치아 고유의 구조적인 특징을 갖고 있는 치성 경조직의 형성을 확인했으며³⁻⁵⁾, 이와 유사한 이식 실험과 치아쌍의 시험관 내 배양 연구들도 이루어지고 있다⁶⁻¹⁰⁾. 그러나 이와 관련된 연구가 현재 진행되고 있지만 치아 이식의 성공에 필요한 치아의 성장 및 발육에 대한 이해는 여전히 부족한 상태로 임상에서 적용하기에는 적응증의 한계가 있다. 치아 이식에 관한 연구는 생체 내에서 태아의 치아쌍을 이식하는 방법과 생체 외에서 치아쌍을 배양하는 방법으로 이루어지고 있는데 발육중인 치아쌍의 시험관 배양은 치아 발달 연구에 좋은 모델이 되며 초기 조직학적 분화를 관찰할 수 있는 장점이 있지만, 석회화와 치관부의 성장이 정상 상태에 비해 부족하여 지속적인 치아쌍의 발달을 관찰할 수 없는 단점이 있다¹¹⁻¹³⁾. 즉, 생체 외 배양은 치아 발육의 환경을 조절할 수 있는 장점이 있지만 정상 환경에서의 지속적인 치아쌍의 발달에 한계가 있으므로 주로 생체 내 다양한 이식 부위로 이식하여 관찰을 하고 있다.

발생중인 치아쌍의 동종 이식 연구에서 실험 동물로 쥐나 햄스터, 기니피그, 토끼, 고양이, 개, 원숭이, 도롱뇽 등을 사용하였는데, 발생중인 포유류의 치아쌍은 배양이 가능하고 발생을 계속 진행하여 경조직의 형성이 가능하며¹⁴⁾, 특히 쥐의 치아는 해부학적 그리고 생리학적, 조직학적으로 사람의 치아와 매우 유사하다¹⁵⁾. 치아쌍 이식의 수여부로 복강벽과 근육, 비장¹⁶⁾, 장골의 골수^{17,18)}, 피부하방^{17,19,20)}, 겨드랑이 공간²¹⁾, 복강²²⁾, 측방 뇌실, 전방 안구²³⁻²⁵⁾, 신피막하 공간²⁶⁻²⁸⁾, 이랑, 포유류의 지방 패드²⁹⁾ 등 여러 부위에서 이식 연구가 이루어졌지만, 이는 수여부와 공여부가 다른 이소성 이식으로서 실제 악골 내 환경에서 치아쌍의 성장 및 발육이 이루어지는 것이 아니므로 좀 더 정상적인 치아쌍의 발생 환경을 제공하는 동소성 부위에서의 연구가 더 적합할 것으로 여겨진다³⁰⁾.

이 연구의 목적은 어느 단계의 치아쌍을 이식했을 때 정상 치아 형태로 석회화가 이루어지는지 관찰하기 위하여 발육중인 여러 시기의 치아쌍을 분리한 후 발치와에 이식하고 석회화 정도를 방사선학적 및 병리조직학적으로 관찰하였다.

II. 연구 재료 및 방법

1. 연구 재료

공여 동물은 Sprague Dawley 계 흰쥐인 NTacSam:SD로 Samtako Bio Korea IBRS #202에서 무감염 상태로 출생하

여 사육된 암컷 흰쥐로 임신한 날을 임신 0일 (day of vaginal plug = day 0)로 정하여 임신 15일과 17일 그리고 출생 후 3일 된 쥐를 사용하였으며 수여 동물은 11주 된 체중 400 g의 서른 마리 수컷 흰쥐로 온도 $22 \pm 1^\circ\text{C}$, 습도 55%에서 12시간 간격으로 명암 교대하면서 일반 식이와 충분한 양의 물을 공급하여 사육하였다.

2. 연구 방법

1) 이식 술식

이식을 위해 400 g의 수컷 흰쥐에 케타민과 럽폰, 생리식염수를 일정 비율로 혼합한 마취액 (Ketamine : Roupfen : Saline = 17 : 3 : 20) 1.5 ml를 복강내 주사하여 마취를 하였다 (케타민, ketamine hydrochloride, 유한양행 50 mg/ml ; 럽폰, xylazine hydrochloride, 바이엘코리아 23.32 mg/ml). 흰 쥐를 실험대에 눕힌 후 고정을 하고 특별히 고안된 기구를 이용하여 개구시킨 후 출혈 및 동통조절을 위해 소량의 2% lidocaine (1 : 100,000 epinephrine)을 위턱 제 1구치 주위로 침윤마취를 하였다. 치주 인대를 절단하고 발치를 시행한 후 즉시 방사선 사진을 촬영하여 잔존 치근의 존재 여부를 확인하였다. 저속 핸드피스를 생리식염수와 함께 사용하여 치근간 골을 제거하여 치아쌍 이식시 삽입이 용이하게 하였으며, 이후 준비된 임신 15일과 17일, 출생 후 3일된 치아쌍을 각각 다섯 마리씩 총 서른 마리 흰쥐의 발치와에 넣고 5-0 mersilk로 봉합하였다.

2) 이식 조직

치아쌍이 종상기 상태인 임신 15일, 종상기에서 치관기로 이행하는 시기인 임신 17일, 치관기인 출생 3일 쯤의 태아쥐 아래턱에서 제 1구치의 치아쌍을 무균상태에서 해부현미경을 이용하여 phosphate buffer solution상에서 현미침 (microneedle)으로 절제하였다. 절제된 치아쌍은 주위조직, 아래턱, 뼈, 경우에 따라서 맥켈 연골과 함께 분리되었으며 치아쌍이 손상되지 않도록 다듬고 나서 Millipore (Millipore corporation, Bedford, Mass., U.S.A.)로 된 금속망에 올리고 Dulbecco's modified eagle media (Bio Whittaker, USA, 12-640F)와 20% fetal bovine serum (GIBCO, USA, 16000-044)을 혼합한 배지에서 술식 시간 동안 4°C 의 온도로 보관하였다.

3) 평가

실험군은 임신 15일과 임신 17일, 출생 후 3일 된 치아쌍을 각각 다섯 마리씩 이식한 총 삼십 마리의 흰쥐로 4주 후 열다섯 마리 그리고 8주 후 나머지 열다섯 마리를 희생시키고, 상악골을 분리하여 방사선학적 그리고 병리조직학적으로 관찰하였으며 대조군은 발치 후 치아쌍을 이식하지 않은 것으로 4주와 8주 후에 희생시켜서 각각 관찰하였다.



Fig. 1. Occlusal view of grafted E15 tooth germ 8 weeks after allotransplantation.
Arrow : Newly formed radiopaque tissue

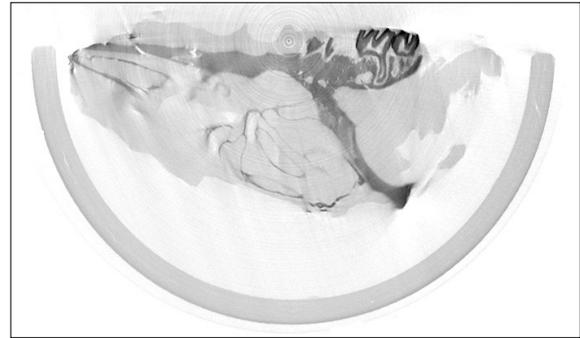


Fig. 2. Micro CT view from the same transplants 8 weeks after allotransplantation.

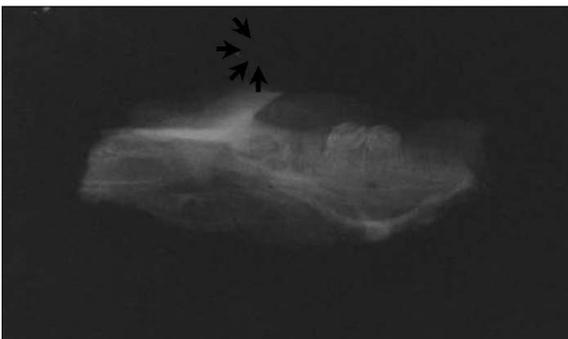


Fig. 3. Lateral view of grafted E17 tooth germ 8 weeks after allotransplantation.
Arrow : Newly formed radiopaque tissue

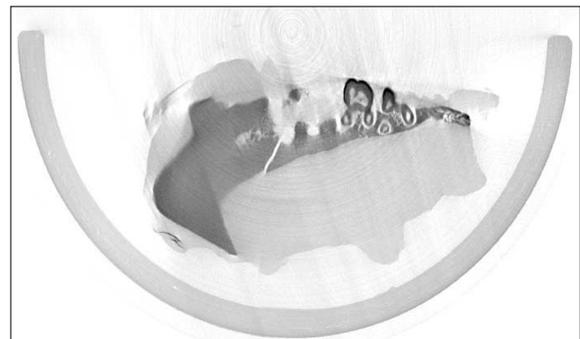


Fig. 4. Micro CT view from the same transplant 8 weeks after allotransplantation.



Fig. 5. Lateral view of the same transplant N3 tooth germ 8 weeks after allotransplantation.
Arrow : Newly formed radiopaque tissue



Fig. 6. Micro CT view from the same transplant 8 weeks after allotransplantation.

(1) 방사선학적 평가

이식 4주와 8주 후에 희생한 수컷 흰 쥐의 상악골만 분리한 후 8N formic acid와 1N sodium formate를 혼합한 4% paraformaldehyde에 고정하고서 방사선 촬영(Yoshida X-707, 70 kV, 7 mA, 0.15s, Dental Intraoral E-Speed Film, Kodak)을 하였다. 그 후 시편을 Micro-CT system (Skyscan 1072, Skyscan, Antwerp, Belgium)을 사용하여 스캔하고 2차원으로 상을 재구성하였다. Micro-CT system은 10 μm의 focal spot을 갖는 고해상도의 X-ray microfocus tube, X-ray 스캐닝동안 발생하는 noise를 제거하는 1.0 mm 두께의 알루미늄 필터, 정확하게 조절되는 시편 고정대, frame-grabber와 연결된 2D X-ray CCD camera와 tomographic reconstruction software program이 있는 Pentium III computer로 구성되어 있다. 시편을 field of view (FOV)내 X-ray source와 CCD camera 사이에 위치시키고 0.9° 간격으로 180° 회전시키며 200개의 수직각으로 촬영하였다. 조사된 X-ray는 시편을 통과한 후 phosphorus screen을 거치면서 가시광선으로 바뀐 후 CCD camera에 인지되었다. 입력된 자료는 frame-grabber에 의해 전산화되어 tomographic reconstruction software에 의해 연산되었다. 조사되어 만들어진 각각의 상을 1 mm 간격의 2차원 단면상으로 재구성하였다.

(2) 병리조직학적 평가

고정된 표본을 3일간 ethylene diamine tetra acetic acid 용액에서 탈회를 한 후 탈수를 하고서 파라핀으로 포매하고 미세박절기로 (Microtome, Germany) 10 μm 두께로 절단하여 슬라이드 표본을 제작하였다. 제작된 표본에 통상의 Harris' hematoxylin-eosin 염색을 시행하여 현미경 (Olympus, Japan) 상에서 관찰하였다.

III. 연구성적

1. 이식 4주 후

임신 15일과 17일, 출생 후 3일 된 치아씩을 각각 다섯 마리 흰쥐의 발치와에 이식하고 4주 후 방사선학적 그리고 병리조직학적으로 관찰하였다.

1) 임신 15일 된 치아씩을 이식한 경우

방사선 사진에서 발치와의 내부는 인접 골과 유사한 방사선학적 소견을 보였다. 병리조직학적 소견에서는 한 마리의 흰쥐에서 치아종 같은 여러 조각의 광화된 조직이 상피 하방의 결체 조직 내부에서 관찰되었고(Fig. 7, 8), 한 마리의 흰쥐에서는 비정상적인 골양상아질이 관찰되었으며 인접 치조골과 유착된 것도 관찰되었다.

2) 임신 17일 된 치아씩을 이식한 경우

방사선사진에서 불투과성 부위는 관찰되지 않았다. 병리조직학적 소견에서는 한 마리의 흰쥐에서 섬유아세포와 비슷하게 생긴 방추형의 세포들로 둘러싸인 공간 속에 불규칙하게 세포가 봉입되어 있는 골양상아질이 발견되었다(Fig. 9, 10).

3) 출생 후 3일 된 치아씩을 이식한 경우

특별한 방사선 불투과성 부위는 관찰되지 않았다. 병리조직학적 소견에서는 한 마리의 흰쥐에서 불규칙한 경계를 지닌 석회화된 조직과 내부에 봉입되어 있는 세포들이 관찰되는 골양상아질의 소견을 보였다(Fig. 11). 고배율 소견에서 내부에 세포가 봉입된 골양상아질이 관찰되었으며 인접 치조골과 유착된 모습이 관찰되었다(Fig. 12).

2. 이식 8주 후

임신 15일과 17일, 출생 후 3일 된 치아씩을 각각 다섯 마리 흰쥐의 발치와에 이식하고 8주 후 방사선학적 그리고 병리조직학적으로 관찰하였다.

1) 임신 15일 된 치아씩을 이식한 경우

방사선 사진에서 비정상적인 형태의 석회화된 구조물의 모습이 보였고 인접치아의 치관과 비슷한 방사선 불투과성을 보이고 있었다(Fig. 1, 2). 병리조직학적 소견에서 두 마리의 흰쥐에서 석회화의 소견을 관찰하였다. 그 중 저배율의 병리조직학적 소견에서 구강 상피 하방에 위치한 석회화된 조직이 관찰되었고(Fig. 13), 고배율 소견에서는 세포성 섬유로 둘러싸인 석회화 조직의 내부에 거품 모양의 빈 공간인 범람질 공간과 상아질이 보였으며 상아모세포상 세포들이 밀집해 있는 부위도 관찰하였다(Fig. 14).

2) 임신 17일 된 치아씩을 이식한 경우

방사선 사진에서 희미한 방사선 불투과상을 보이는 발치와 내부의 근심부위에 석회화가 진행된 무정형의 구조물을 관찰하였다 (Fig. 3, 4). 병리조직학적 소견으로 한 마리의 흰쥐에서 석회화된 조직이 관찰되었고 석회화된 조직은 세포성분이 존재하지 않는 골양상아질이였으며 그 주위로 치주인대세포가 둘러싸고 있었다(Fig. 15, 16).

3) 출생 후 3일 된 치아씩을 이식한 경우

방사선 사진에서 발치와의 전방 부위에 다소 치아 형태를 보이는 석회화된 부분이 관찰되었으며 치수강과 같은 공간이 내부에 존재해 있었다(Fig. 5, 6). 병리조직학적 소견으로 세 마리의 흰쥐에서 석회화된 조직을 관찰하였으며 그 중에서 상피 하방 결체조직의 일부가 증식되어 채워진 발치와에 백악질과 골양상아질로 이루어진 석회화된 조직을 관찰하였다(Fig. 17, 18).

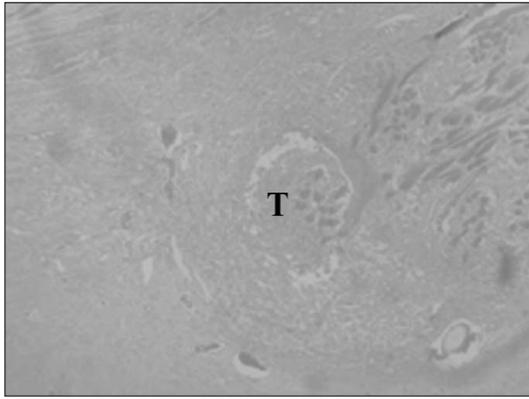


Fig. 7. Calcified tissue of grafted E15 tooth germ 4 weeks after allotransplantation. ($\times 100$)
T : Odontoma like calcified tissue

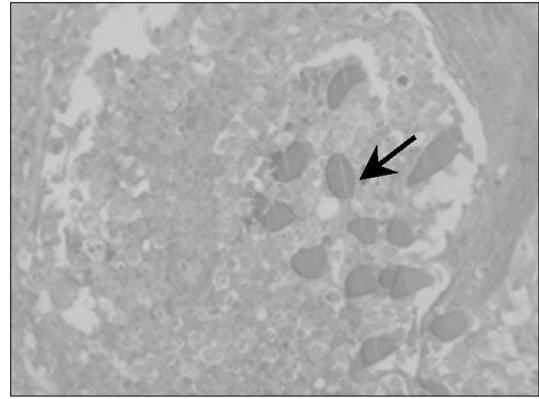


Fig. 8. Odontoma like structure of grafted E15 tooth germ 4 weeks after allotransplantation. ($\times 400$)
Arrow : Newly formed tooth like structure

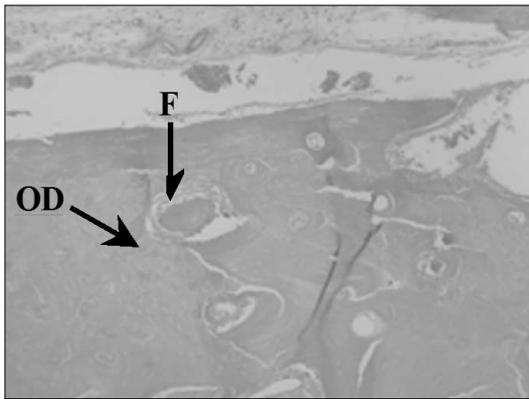


Fig. 9. Osteodentin observed on grafted E17 tooth germ 4 weeks after allotransplantation. ($\times 100$)
OD : Osteodentin, F : Fibrous tissue

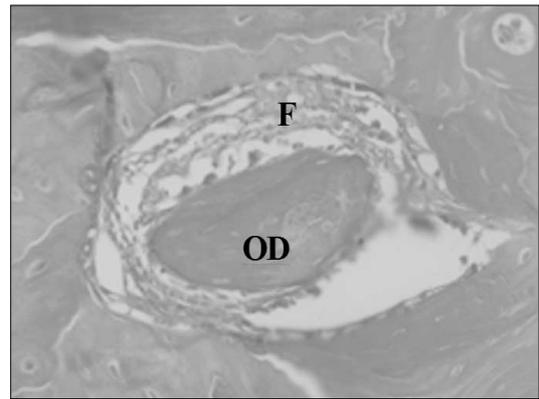


Fig. 10. Calcified tissue observed on grafted E17 tooth germ 4 weeks after allotransplantation. ($\times 400$)
OD : Osteodentin, F : Fibroblast like cell

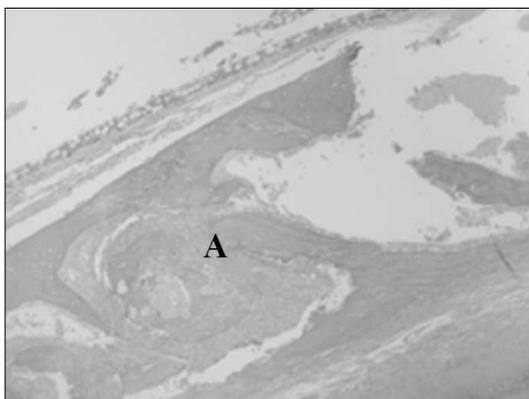


Fig. 11. Ankylosis observed on grafted N3 tooth germ 4 weeks after allotransplantation. ($\times 100$)
A : Ankylosis area

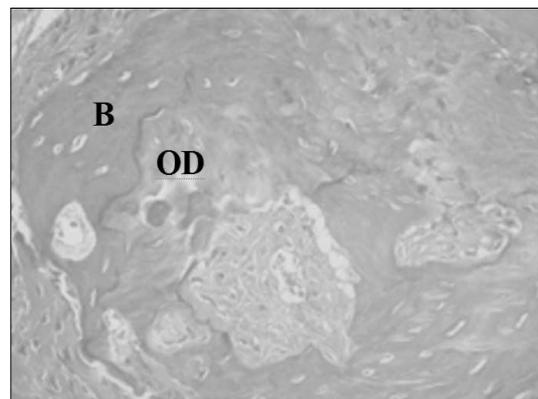


Fig. 12. Ankylosis observed on grafted N3 tooth germ 4 weeks after allotransplantation. ($\times 400$)
B : Alveolar bone, OD : Osteodentin

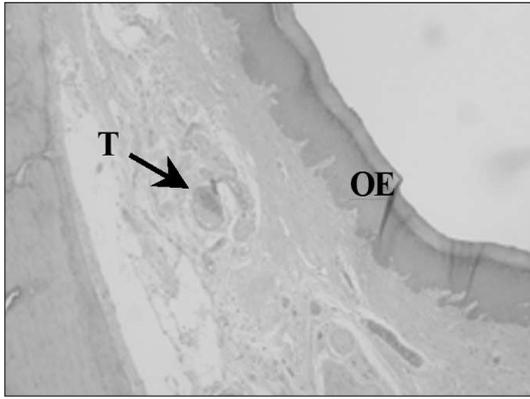


Fig. 13. Newly formed tooth like structure of grafted E15 tooth germ 8 weeks after allotransplantation. ($\times 100$)
 OE : Oral Epithelium, T : Newly formed tooth like structure

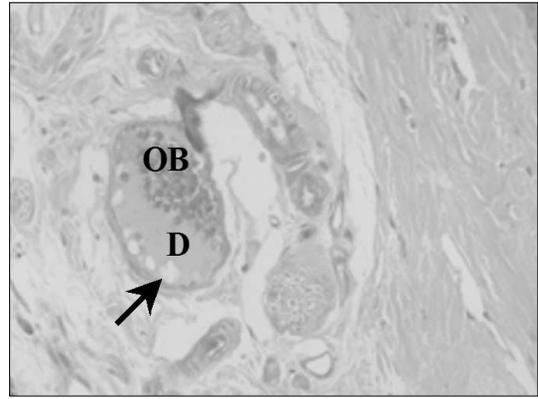


Fig. 14. Newly formed tooth like structure of grafted E15 tooth germ 8 weeks after allotransplantation. ($\times 400$)
 D : Dentin, OB : Odontoblastic cell, Arrow : Enamel space

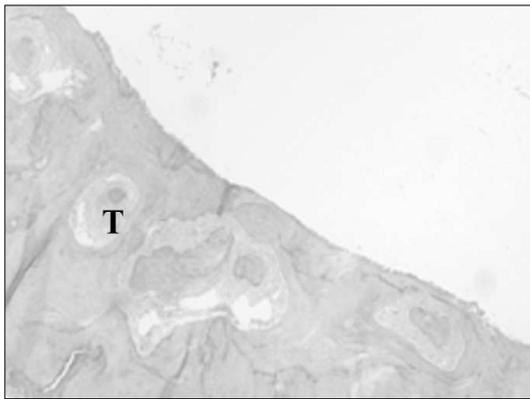


Fig. 15. Tooth-like structure of grafted E17 tooth germ 8 weeks after allotransplantation. ($\times 100$)
 T : Newly formed tooth like structure

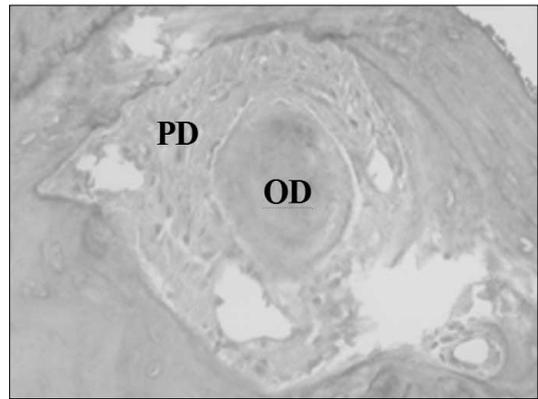


Fig. 16. Tooth-like structure of grafted E17 tooth germ 8 weeks after allotransplantation. ($\times 400$)
 OD : Osteodentin, PD : Periodontal ligament

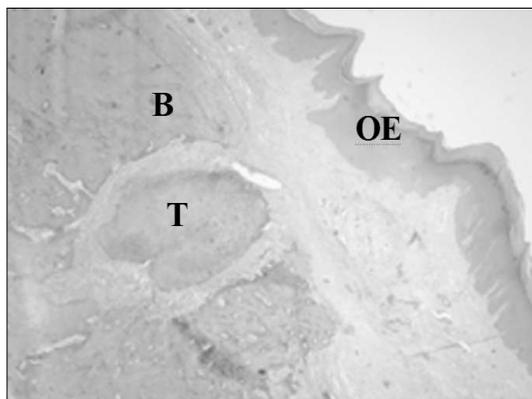


Fig. 17. Tooth-like structure with eruption pattern in grafted N3 tooth germ 8 weeks after allotransplantation. ($\times 40$)
 OE : Oral Epithelium, T : tooth-like structure, B : Bone

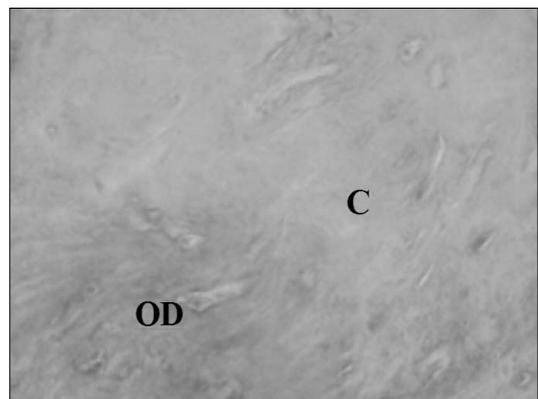


Fig. 18. Tooth-like structure derived from transplanted N3 tooth germ 8 weeks after allotransplantation. ($\times 400$)
 C : Cementum, OD : Osteodentin

IV. 총괄 및 고찰

기관의 발생에는 실질 (parenchyma)과 기질 (stroma)이라 불리는 두 가지 서로 다른 조직이 필요하며 포유류와 다른 척추 동물에서 치아의 발생은 다른 대부분의 기관들의 형성처럼 발생중인 배자 내에서 상피와 간엽간의 연속적 그리고 서로 상보적인 일련의 상호작용을 거치면서 일어나는 과정으로써 외배엽 기원의 법랑기 상피와 외배엽성 간엽 기원의 두개신경능선의 상호 작용이 필요하다^{22,31-33}. 치아 형성 과정은 3개의 복잡한 생물학적 과정을 수반하는데 첫째는 위치정보에 의해 올바른 위치에서 기관 형성이 시작되는 개시, 둘째는 세포가 모여서 기관의 원기 (organ rudiment)를 이루는 형태 발생, 마지막으로 세포가 기관의 특징적인 구조를 이루는 분화로서 이 세 단계는 겹치면서 진행이 되며 이 과정동안 상보적인 상피와 간엽의 상호작용은 치아 형성의 모든 단계를 조절한다³⁴. 최근의 연구에서 특정 성장 인자 및 전사 인자에 의한 신호 전달 체계도 치아가 발생을 시작하는 부위와 위치를 결정하는 등 치아 발생의 전 단계에 걸쳐서 중요한 역할을 하는 것으로 알려지고 있다.

치아썩은 치아 발생 과정동안 환경적 요소에 매우 민감한데, 많은 연구에서 치아의 혈관화, 특히 신혈관 형성 인자 (angiogenic factor)의 발현과 치아의 발생은 관련이 있는 것으로 추정을 하고 있지만 아직은 연구가 필요한 상태이다³⁵. 그러므로 수여 조직이 이식 조직을 수용하고 초기에 이식된 조직에서 혈관이 재형성되어야 기질화가 가능해지고 법랑모세포와 상아모세포의 구조화가 이루어져서 이후의 발생 과정을 진행할 수 있다^{6,26}. 신경분포와 치아 발생의 관계는 아직 명확하게 밝혀진 것은 없지만 어느 정도 연관성이 있는 것으로 보이며 쥐에서 하치조 신경의 절단 시 불균일한 상아질의 형성이 보고된 바 있었고³⁷, 신경 성장 인자 등의 조절 요소도 치아의 발생기간 동안 신경분포에 관여하는 것으로 알려져 있다³⁵. 치아썩은 또한 호르몬의 영향을 받을 수 있는데 Baume 등³⁸은 갑상선을 제거한 쥐에서 치아가 부분적으로 퇴화하여 전치의 맹출율이 45% 감소함을 보고한 바 있었으며, Schour 등³⁹은 부갑상선을 제거한 흰쥐에서 상아질이 저광화되는 현상을 보고하였다.

이식 시 이식 조직의 생존은 수여 조직에 의해 결정되며 일반적으로 이식된 치아썩의 성숙은 정상적인 치아의 성숙 과정에 비해 다소 지연된 양상을 보인다. 이식된 치아썩이 정상적으로 성장 및 성숙하여 석회화된 치아조직이 되기 위해서는 수여 조직의 환경이 장기간의 발육 기간동안 필요한 생리학적 환경을 이식 조직에 제공할 수 있어야 한다^{11,17,26}. 현재까지 치아썩을 생체 내 및 생체 외로 이식하여 치아 형성 및 발육을 살펴보는 실험은 여러 차례 이루어졌는데 생체 내 이소성 위치에 이식하는 경우 치아의 정상적인 발생 환경인 악골로 이식하는 것이 아니므로 치아의 정상적인 성장 환경과는 다른 환경이고 치아가 기능을 할 수 없는 위치이므로 한계가 있어서³⁰, 이 연구는 세 가지 시기의 치아썩을 발치와에 이식하여 어느 시기에 석회화가 잘 이루어지는지 알아보고자 하였다.

이 실험에서 이식된 치아썩이 정상적인 발육과 성장에 비해 상당히 지연된 모습과 무질서하게 형성된 석회화 조직을 관찰할 수 있었고 형태학적으로도 석회화된 조직은 크기도 작았는데, 혈관의 분포와 공급되는 혈류의 양이 다른 이식 수여 부위에 비해 한계가 있었기 때문인 것으로 사료된다. 이에 대해서 치아썩 이식의 성공은 조직액의 단순 투과가 아닌 이식된 조직 주위에 분포하는 혈관을 통한 충분한 혈류 및 산소의 공급의 측면에서 그 이유를 생각해볼 수 있다². 그러나 이번 실험에서는 혈류 공급에 한계가 있는 악골에 이식하여 비록 지연된 형태이긴 하지만 석회화가 이루어진 것으로 치유 과정 중에 혈병이 채워지고 또한 골과 결합조직, 상피로 둘러싸인 발치와라는 혈관의 분포와 혈류 공급이 제한된 불리한 환경에서 석회화가 이루어진 것으로 의미가 있다.

이전의 연구에서 치아썩 이식시 골양상아질의 형성에 대한 많은 보고가 있었다^{17,19,21}. 이 연구에서도 치근표면에서 골양상아질이 상아질과 혼재되어있는 모습을 관찰할 수 있었다. Prime와 Reade¹³, Richman와 Kollar²⁵는 골양상아질이 치수 세포나 상아모세포에 의해 형성된다고 하였으며 Ten Cate와 Mill⁴⁰은 치낭의 결합조직에서 기원한 세포에 의해서 형성된다고 했고, Riviere 등²⁹은 골양상아질의 형성이 외과적 손상으로 인해 혈류가 차단되는 것에 의해 발생한다고 했다.

이 실험에서는 동종 치아 이식 방법을 사용했으며 면역학적인 고려가 필요할 것으로 생각된다. 치아 이식 시 지연형의 비특이적 면역 거부 반응이 일어나서 치아 조직의 점진적인 흡수가 발생하게 되며 치아썩 이식 실험시 조직 적합성은 이식 후 상아질과 치수 조직의 형성, calciotraumatic line 및 원형세포의 침윤이 없는 것이 특징이다¹. 그러나 치아썩은 태아의 줄기 세포에 해당되므로 치아 이식에 있어서 면역 반응은 크게 중요하지 않으며, 면역 거부 반응이 크게 나타나지 않는 것으로 알려져 있다⁴¹. 이번 연구에서 명백한 면역학적 거부 반응을 관찰할 수 없었던 것으로 보아 면역학적 요인은 큰 영향을 미치지 않은 것으로 여겨진다.

치아썩 이식 후 경과 기간을 살펴보면 장 등⁴²은 연구에서 치아썩 이식 4주 및 8주 후에 석회화된 조직이 형성된 것을 관찰했지만 발달이 지연된 모습이었으며 맹출의 소견은 보이지 않았다. 고⁴³는 이식 8주 및 24주 후에 석회화 조직이 좀 더 상피하방에 위치하는 맹출의 가능성을 관찰했다. 장 등⁴²의 석회화 조직보다는 좀 더 치아에 가까운 형태를 보였지만 구치의 고유한 특징적인 모습은 보이지 않았으며 조직학적으로도 장 등⁴²의 결과와 유사한 소견을 보였다. 이번 실험에서는 맹출의 가능성을 보이는 결과가 하나 있었는데, 장 등⁴²과 고⁴³의 결과와 비교해 볼 때 이식 후 경과 기간을 더 길게 하면 좋은 결과를 얻을 수 있을 것으로 생각된다.

이번 연구를 통해서 이식된 치아썩 조직에서 석회화된 소견을 관찰할 수 있었지만 형태학적으로 또한 질적으로도 완전한 치아의 형태를 갖지는 못했다. 이러한 결과의 이유는 다음과 같다.

첫째는 치아쌍을 분리하는 과정 중에서 불가피하게 발생하게 되는 외과적 외상에 의해 치배 고유의 위치정보가 소실되었을 수 있다. 기저막과 세포 표면 표지 물질이 붕괴되고, 이로 인해 위치정보가 상실되어 치아쌍의 발육 과정에 혼란이 생겼을 수 있으며, 또한 이식 조직의 고정 없이 이식을 하였으므로 태아의 악골 내에 존재해 있었을 당시의 방향성이 이식 후에 바뀌었을 수 있다. 둘째는 발치와의 치유와 관련하여 발치와는 출혈 후 혈액이 응고되면서 혈병으로 채워지는 치유의 과정을 진행하게 되는데 혈병 형성에 의해 치아쌍 주위로의 직접적인 혈관의 분포와 이를 통한 혈행의 공급이 극도로 제한되어 있거나 아예 그 자체가 없을 수 있다. 셋째는 정상적인 치아 및 치주 조직의 발생을 위해서는 치아쌍을 포함한 아래턱 조직 전체를 이식하는 방법이 적절하다²¹⁾. 넷째는 성숙한 쥐의 치조골 및 구강 상피는 정상적인 치아를 형성하기 위한 발생 능력이 상실되었을 수 있다. 마지막으로 공간적으로 제한된 발치와가 치아형성을 제한했을 수 있다. 즉, 다른 이소성 부위에 비해 견고한 치조골로 둘러싸인 발치와가 치아쌍의 성장 환경을 공간적으로 제한해서 치아쌍의 분화가 제대로 이루어지지 못했을 수 있다.

이 연구에서 세 가지 시기의 치아쌍을 발치와에 이식하여 석회화를 이루었지만 정상적인 치아 모양으로 형성되지는 않았다. 그러므로 향후에는 이식된 치아쌍이 정상 치아 형태로 발육할 수 있도록 이식 조직의 발육 정도와 이식 조직을 절제할 때 외과적 외상의 감소, 치아쌍으로의 풍부한 혈류 공급, 이식 기간, 이식 조직의 고정을 고려하여 더 많은 연구가 진행되어야 할 것으로 생각한다.

V. 결 론

이 연구는 치아 이식의 성공률을 높이기 위하여 어느 단계의 치아쌍을 이식했을 때 정상 치아 형태로 석회화가 이루어지는지 연구하기 위하여 발육중인 임신 15일과 17일 그리고 출생 후 3일 된 쥐의 치아쌍을 분리하여 11주 된 쥐의 악골내 동소성 부위로 동종 이식하고 4주와 8주 후 방사선학적 그리고 병리조직학적으로 석회화 과정을 관찰하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 발치와에 이식된 임신 15일과 17일, 출생 후 3일 된 치아쌍에서 4주와 8주 후 석회화된 조직이 형성되었다.
2. 임신 15일과 17일, 출생 후 3일 된 치아쌍을 발치와에 이식하고 4주 후 치아종 같은 비정상적인 석회화 조직과 인접 치조골과 유착된 골양상아질이 관찰되었다.
3. 임신 15일과 17일 된 치아쌍을 발치와에 이식하고 8주 후 골양상아질이 보였으며 치주인대로 둘러싸인 것도 관찰되었다.
4. 출생 후 3일 된 치아쌍을 발치와에 이식하고 8주 후 골양상아질과 백악질이 형성되었다.

이 연구는 치아쌍을 흰쥐의 발치와에 이식한 후 치아쌍의 발육을 관찰한 것으로 이식 조직에서 크기가 작고 무정형의 석회

화된 조직이 형성되었다. 정상적인 치아보다 형태가 불규칙하고 발육이 늦었으므로 이식된 치아쌍이 정상적인 치아 형태로 석회화되도록 하기 위해서는 외과적 외상의 감소와 치아쌍으로의 풍부한 혈류 공급, 이식 기간, 이식 조직의 고정을 고려하여 더 많은 연구가 진행되어야 할 것으로 생각한다.

참고문헌

1. Kerr D : Oral pathology, The replantation and transplantation of teeth. Lea and Febiger, Washington D. C., 397-419, 1986.
2. Isizeki K, Fujiwara N, Sakakura Y, *et al.* : The development of mandibular molar tooth germs isografted in the mouse spleen. Arch Oral Biol, 32:695-704, 1987.
3. Palmer RM, Lumsden AG : Development of periodontal ligament and alveolar bone in homografted recombinations of enamel organs and papillary, pulpal and follicular mesenchyme in the mouse. Arch Oral Biol. 32:281-289, 1987.
4. Lubbock MJ, Harrison VT, Lumsden AG, *et al.* : Development and cell fate in interspecific (*Mus musculus/Mus caroli*) intraocular transplants of mouse molar tooth-germ tissues detected by in situ hybridization. Arch Oral Biol. 41:77-84, 1996.
5. Baba T, Terashima T, Oida S, *et al.* : Determination of enamel protein synthesized by recombined mouse molar tooth germs in organ culture. Arch Oral Biol, 41:215-219, 1996.
6. Fleming HS : Homologous and heterologous intraocular growth of transplanted tooth germs. J Dent Res, 31:166-188, 1952.
7. Couble ML, Melin M, Joffre-Romeas, *et al.* : Effects of TGF beta1 on dental pulp cells in cultured human tooth slices. J Dent Res, 79:1689-1699, 2000.
8. About I, Murray PE, Lumley PJ, *et al.* : Human odontoblast cell numbers after dental injury. J Dent, 28:277-285, 2000.
9. Yamashita Y, Yoneda S, Shibata S, *et al.* : Biosynthesis of versican by rat dental pulp cells in culture. Arch Oral Biol, 47:435-442, 2002.
10. Miura M, Batouli S, Brahim J, *et al.* : Comparison of stem-cell-mediated osteogenesis and dentinogenesis. J Dent Res, 82:976-98, 2003.
11. Riviere GR, Tarbox GS, Bringas P, *et al.* : Murine tooth organ transplantation after in vitro culture. J Dent Res, 62:980-984, 1983.

12. Vries IG, Ameloot PC, Coomans D, *et al.* : An ultra-structural study of dentinogenesis and amelogenesis in rat molar tooth germs cultered in vitro. *Cell Tissue Res*, 246: 623-634, 1986.
13. Prime SS, Reade PC : Xenografts of recombined bovine odontogenic tissues and cultured cells to hypothyroid mice. *Transplantation* 30:149-152, 1980.
14. Gaunt WA : Quantitative aspects of the developing tooth germ. *J Dent Res*, 46:851-857, 1967.
15. Pinzon RD, Kozlov M, Burch WP : Histology of rat molar pulp at different ages. *J Dent Res*, 46:202-208, 1965.
16. Gerber A, Armbrecht E : Integration of dental technology into the structure of stomatology. *Comments on the articles by Ebersback, Kamfe, Stiebing and Ulrich Zahntechnik*, 13:511-513, 1972.
17. Weinreb MM, Sharav Y, Ickowicz M : The recuperative capacity of the pulp. *Int Dent*, 17:393-404, 1967.
18. Barrett AP, Read, PC : Revascularization of mouse tooth isografts and allografts using autoradiography and carbon-perfusion. *Arch Oral Biol*, 26:541-545, 1981.
19. Klein J : Tooth transplantation in the mouse. III. The role of minor (non-H-2) histocompatibility loci in tooth germ transplantation. *Transplantation*, 12:500-508, 1971.
20. Riviere GR : Skin graft rejection after allogenic tooth transplants in mice. *J Dent Res*, 63:41-43, 1984.
21. Lumsden AG, Buchanan JA : An experimental study of timing and topography of early tooth development in the mouse embryo with an analysis of the role of innervation. *Arch Oral Biol*, 31:301-311, 1986.
22. Kollar E J, Baird GR : Tissue interactions in embryonic mouse tooth germs. II. The inductive role of the dental papilla. *J Embryol Exp Morph*. 24:173-186, 1970.
23. Yoshikawa DK, Kollar EJ : Recombination experiments on the odontogenic roles of mouse dental papilla and dental sac tissues in ocular grafts. *Arch Oral Biol*, 26:303-307, 1981.
24. Granholm AC : Histology: Innervation and radiographic appearance of fetal rat tooth germs developing in oculo. *Scand J Dent Res*, 92:381-390, 1984.
25. Richman JM, Kollar EJ : Tooth induction and temporal patterning epithelium of fetal mice. *Am J Anat*, 175:493-505, 1986.
26. Bartlett PF, Reade PC : The antigenicity of mouse tooth germs. I. Isogenic and allogenic transplantation. *Transplantation*, 16:479-488, 1973.
27. Prime SS, Reade PC : The separation and culture of cell populations from bovine molar tooth germs. *Arch Oral Biol*, 25:187-193, 1980.
28. Morio I : Recombinant study of the mouse molar cervical loop and dental papilla by renal transplantation. *Arch Oral Biol*, 30:557-561, 1985.
29. Riviere GR, Sabet TY, Hoffman RL : Transplantation of tooth buds across a multiple non-H-2 barrier. *Transplantation*, 12:271-278, 1971.
30. Carlile MJ, Harrison VT, Lumsden AGS *et al.* : Development and cell fate in interspecific (*Mus musculus/Mus caroli*) orthotropic transplants of mouse molar tooth germs detected by in situ hybridization. *Arch Oral Biol*, 43:395-406, 1998.
31. Kollar EJ, Fisher C : Tooth induction in chick epithelium: Expression of quiescent gene for enamel synthesis. *Science*, 207:993-995, 1980.
32. Thesleff I, Mikkola M : The role of growth factors in tooth development. *Int Rev Cytol*, 217:93-135, 2002.
33. Thesleff I, Sharpe P : Signalling networks regulating dental development. *Mech Dev*, 67:111-123, 1997.
34. Kollar EJ, Lumsden AG : Tooth morphogenesis: the role of the innervation during induction and pattern formation. *J Biol Buccale*, 7:49-60, 1979.
35. Nanci A, Bosshardt DD : Immunocytochemical characterization of ectopic enamel deposits and cementicles in human teeth. *Eur J Oral Sci*, 111:51-59, 2003.
36. Hoffman RL : Formation of periodontal tissues around subcutaneously transplanted hamster molars. *J Dent Res*, 39:781-798, 1960.
37. Avery JK, Gregg JM : Experimental studies of vascular development in normal and cleft palate mouse embryos. *Cleft Palate J*, 8:101-117, 1971.
38. Baume LJ, Becks H, Evans HM : Hormonal control of tooth eruption. I. The effect of thyroidectomy of the upper rat incisor and the response to growth hormone, thyroxin, or the combination of both. *J Dent Res*, 33:80-90, 1954.
39. Schour I, Bhaskar SN, Greep RO, *et al.* : The corrective effect of parathyroid hormone on genetic

- anomalies in the dentition and the tibia of the rat. J Dent Res, 31:256-270, 1952.
40. Ten Cate AR, Mills C : The development of the peri-odontium: the origin of alveolar bone. Anat Rec, 173:69-78, 1972.
41. Cserepfalvi MP : Transplantation of teeth in humans. Williams and Wilkins, Baltimore, 259-260, 1959.
42. 장석철, 정한성, 이제호, 김성오, 최병재 : 흰쥐의 발치와에 이식된 태아 치아쌍의 발육. 대한소아치과학회지, 33:35-42, 2006.
43. 고동현 : 흰쥐의 악골에 동종 이식된 태아 치아쌍의 장기간 발육, 연세대학교 대학원, 2004.

Abstract

DEVELOPMENT OF ALLOTRANSPLANTED TOOTH GERMS AT VARIOUS DEVELOPMENTAL STAGE INTO THE WHITE RAT' S EXTRACTION SOCKET

Hwi-Hoon Jung, Han-Sung Jung*, Seoung-Oh Kim, Hyung-Jun Choi, Jae-Ho Lee, Byung-Jai Choi

*Department of Pediatric Dentistry, * Department of Oral Biology,
College of Dentistry and Oral Science Research Center, Yonsei University*

The purpose of this study is to evaluate at which stage of tooth germ would develop into normal calcification and hence to increase the success rate of transplantation. Therefore, tooth germs on the 15th, 17th embryonic day and the 3rd day of birth were separated for allotransplantation into maxilla of adult rat of 11 weeks. Calcification processes were analyzed radiographically and histopathologically at 4 weeks and 8 weeks after allotransplantation. The results are as follows:

1. Allotransplanted tooth germ at 4 weeks and 8 weeks showed delayed calcification compared to that of normal odontogenesis.
2. At 4 weeks, abnormal calcified tissue, such as odontoma and ankylosis of osteodentin with surrounding alveolar bone were observed.
3. At 8 weeks, allotransplanted tooth germs of the 15th and 17th embryonic day showed calcification and osteodentin surrounded by periodontal ligament.
4. At 8 weeks, allotransplanted tooth germs of the 3rd day of birth showed calcification composed of cementum and osteodentin.

In this study, we observed small sized and amorphous calcified tissue from allotropic allotransplantation of tooth germs. Since these calcified tissue were underdeveloped and shaped irregularly, for calcification into normal tooth form, further study needs consideration about the reduction of surgical trauma, developmental stage of transplanted tooth germ, blood supply from recipient site, fixation method in transplanted site and period of transplantation.

Key words : Allotransplantation, Tooth germ, Odontogenesis