

백서의 주기적 치아절제가 악하선에 미치는 영향에 관한 연구

서울대학교 치과대학 구강병리학교실

(지도 김 동 순 교수)

박 윤 수

EFFECT OF THE PERIODIC AMPUTATION OF TEETH ON THE SUBMAXILLARY GLAND OF RATS.

Yoon-Soo Park, D.D.S.

Department of Oral Pathology, College of Dentistry, S.N.U.

(Directed by Prof. Dong-Soon Kim, D.D.S., M.S., Ph.D.)

.....> Abstract <.....

The present study describes the effects of periodically amputated rat incisor teeth upon the weight of submaxillary gland, the distribution and content of phosphorus compound, i.e., acid soluble phosphorus, lipid phosphorus, nucleic acid phosphorus, and protein phosphorus, which are all important parameters on the cellular component changes in submaxillary gland, and evaluates the relationship between the surgical injury and general metabolism by means of serum protein bound hexose and fucose concentration.

The male rats were divided into two groups:

- 1) Amputated group : rats with repeated amputation on the upper and lower four incisors.
- 2) Control group : rats with no incisor amputation.

The incisor amputation was performed under light ether anesthesia, with bone cutting forcep two or three millimeter above the gingival border, every two days during two weeks.

At the end of experiment, two days after the last amputation, the rats were decapitalized, the blood was obtained, the submaxillary glands were removed, weighed and homogenized.

The phosphorus compound was fractionated by Schneider's method, the phosphorus content of each fraction was determined by Fiske-SubbaRow method. Protein bound hexose with orcinol-H₂SO₄ reagent and protein bound fucose with cysteine reagent were quantitated.

The results were obtained as follows.

1. The weight of submaxillary gland after the incisor amputation was increased about two times than control group.
2. The distribution rates of phosphorus compound in each fraction were almost similar to those of control group.
3. The concentrations of serum protein bound hexose and fucose after incisor amputation increased by 12.6%, 46.7%, respectively.
4. By increasing of the weight of submaxillary gland, the contents of acid soluble phosphorus, lipid phosphorus, nucleic acid phosphorus, protein phosphorus, and total phosphorus increased by 85.6%, 96.6%, 76.9%, 85.5% and 85.5%, respectively.

서 론

실험재료 및 방법

주기적 치아절제가 백서 악하선과 설하선의 hypertrophy를 일으킨다고 Wells et al. (1959)¹⁾, Houssay et al. (1962)²⁾와 Perec et al. (1965)³⁾ 등이 보고 한 바 있다.

백서 악하선의 hypertrophy의 원인이 신경조절기전에 의해 일어난다고 보고된 연구는 많이 있다. Wells (1961)⁴⁾ 등에 의하면 교감신경 절단만으로는 악하선 hypertrophy를 방지할 수 없고 또한 Houssay et al. (1962)²⁾, Wells와 Peronace (1964)⁵⁾와 Perec (1965)³⁾ 등에 의해 부교감신경 절단만으로도 악하선 hypertrophy를 방지할 수는 없다고 보고하고 있다. 그러나 Wells와 Peronace (1964)⁵⁾, Houssay (1966)⁶⁾와 Alvarez Ugarte et al. (1966)⁷⁾ 등에 의해 교감신경과 부교감신경을 동시에 절단할 때는 악하선 hypertrophy를 방지할 수 있다고 보고하고 있다.

주기적 치아절제시나¹⁾²⁾³⁾ isoproterenol 투여시에⁸⁾⁹⁾¹⁰⁾¹¹⁾¹²⁾¹³⁾ 발생하는 것과 같이 신경자극으로 일어나는 타액선의 hypertrophy는 acinous type 이고 반면에 gonad, adrenal과 thyroid와 같은 내분비선들은 주로 serous tubule의 크기와 구조를 조절¹⁴⁾한다고 보고하고 있다.

저자는 주기적 치아절제에 의해 일어나는 악하선 hypertrophy가 악하선내의 단순히 수분의 증가로 일어나는 것인지 또는 세포구성요소인 인산화합물의 변화로 일어나는지 구명키 위하여 특히 핵산과 단백질의 변화와 혈청내 protein bound fucose와 hexose의 변화를 관찰한바 의의있는 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

실험동물로는 일정한 조건과 사료로서 일정기간 사육한 체중 145~200g의 웅성백서를 사용하였으며 20마리의 대조군과 20마리의 실험군으로 나누워 실험하였으며 실험기간중 실내온도는 가능한한 일정하게 유지하였다.

I) 치아절제시술

20마리의 실험군을 미약한 ether마취하에 멸균된 골감자를 사용하여 상하악 전치를 치은연상 2~3mm부위에서 절단하였으며 절단회수는 2일간격으로 2주간에 6회로 끝냈다. 대조군은 같은 조건을 유지시키기 위하여 2일간격으로 미약한 ether마취를 실험군과 같이 시행하였다. 최종절단 2일후에 경동맥혈액을 실험시키어 혈액을 채취하고 악하선을 적출하였다.

II) 시료의 준비

(1) 악하선 중량측정: 실험군과 대조군의 악하선을 적출하여 주위결체조직과 혈액을 제거하고 생리 식염수에 세척하여 filter paper로 여분의 수분을 제거하여 즉시 중량을 Torsion balance로 평량하였다.

사용전까지는 -4°C에서 냉동시켜 보관하였다.

(2) 혈청분리: 경동맥혈액을 약 5ml이상 채취하여 원침후 냉동시킨후, protein bound fucose와 hexose와 분석용으로 사용하였다.

III) 분석방법

(1) 인산화합물 분획 및 정량: 악하선 조직내의 각인산화합물을 Schneider¹⁶⁾법으로 분획하고 각 분획의 인산함량을 Fiske SubbaRow¹⁷⁾법으로 정량하였다.

① 산용성인분획: 신선악하선조직 300mg을 제빨리 평량하여 glass homogenizer에 넣고 빙빙 10% tri-chloroacetic acid (TCA) 10ml를 가하여 잘 마쇄한 다

음 냉동원심하여 상청액을 따러두고, 그 잔사를 다시 10% TCA 10ml와 5ml로 반복 세척하여 상청액을 합하여 정확히 25ml로 하였다.

② 지질인분획: 1)의 잔사에 95% ethyl alcohol 10ml를 잘 흔든 다음 10분간 방치하였다가 원침하여 그 잔사에 다시 ethyl alcohol-ether (3:1)혼액 10ml를 가하여 비등육상에서 3분간 추출한후 원침하고 그 잔사에 다시 ether 5ml를 가하여 추출한 다음 이들 추출액을 합쳐 25ml로 채웠다.

③ 핵산인분획: 2)의 잔사를 증류수 5ml와 빙병 10% TCA 6ml로 추출한 다음 원침하고, 그 잔사를 5% TCA 10ml에 부유시켜서 비등육상에서 15분간 가열한 다음 냉각을 기다려 원침하였으며, 그 잔사를 5% TCA 4ml로 반복 추출하고 이 TCA추출액들을 모두 합쳐서 25ml로 만들어 핵산인분획으로 사용하였다.

④ 단백질분획: 3)의 잔사를 2% NaOH로 수용상에서 수회 가열추출하여 합치고 최종용량 25ml로 만들어 단백질분획으로 하였다.

⑤ 각분획의 인정량: Fiske SubbaRow법¹⁶⁾에 의해 정량하였다.

(2) 열침 Protein Bound Fucose와 Hexose의 정량
열침내 protein bound fucose는 rhamnose를 표준용액으로하여 cysteine시약을 사용하는 Dishe와 Shettles법¹⁸⁾으로 정량하였고 protein bound hexose는 galactose-mannose를 표준용액으로 하여 orcinol-H₂SO₄시약을 사용하는 Lustig와 Langer의 변법¹⁹⁾으로 정량하였다.

실험 결과

1) 치아절제가 악하선증량에 미치는 영향

Table I 및 Fig. 1에서 보는 바와 같이 악하선증량

■ Submaxillary gland weight
□ Body weight.

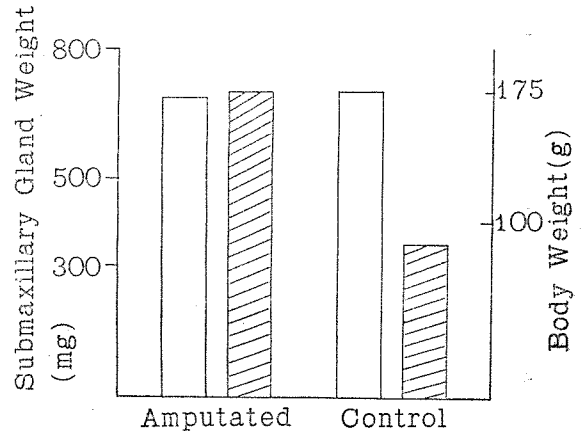


Fig. 1. Effect of periodic incisor amputation upon the submaxillary gland weight of male rat.

은 6회 반복하여 치아를 주기적으로 절제한 군에서는 703 mg/175g body weight, 대조군에서는 339mg/175g body weight로서 실험군에서는 대조군에 비해 약 2배의 증가를 보이고 있다.

2) 치아절제가 악하선인산화합물에 미치는 영향

적출된 악하선조직내 각 인산화합물의 분획을 Schneider¹⁶⁾법으로 분획하고 각 인산화합물의 함량을 Fiske-SubbaRow¹⁷⁾법으로 측정 한 결과는 다음과 같다.

Table II에서 보는 바와 같이 신선악하선조직의 총인

Table I : Effect of the periodic incisor amputation upon the submaxillary gland weight of male rats.

	Amputated (20) ***		Control (20)		% Change	Probability
	Mean	S. D. *	Mean	S. D.		
Body weight (g)	175	20.5	175	20.7	0	NS**
Gland weight(mg.)	703	48.6	339	113.9	107	p < 0.01

* S. D. =Standard deviation

** NS=Non-significant

*** Figure in parentheses denotes number of samples represented by experimental animals.

Table II : Comparison of phosphorus compound concentration in each fraction of submaxillary gland of rat between the amputated and the control group.

	Amputated(20)* (Mean±S.D. g/100mg fresh gland weight)	Control (20)	% Change
A-P **	45.0±4.6	47.3±10.2	-5.9
L-P	48.3±8.5	51.2±9.5	-5.6
N-P	49.6±6.1	51.4±3.2	-3.5
P-P	28.0±3.7	29.1±1.9	-3.8
T-P	170.9±19.8	179.0±22.3	-4.5

* Figure in parentheses: number of samples (rats)

** A-P : Acid soluble phosphorus

L-P : Lipid phosphorus

N-P : Nucleic acid phosphorus

P-P : Protein phosphorus

T-T : Total phosphorus

(The same abbreviation appears in Table III, Fig. 2)

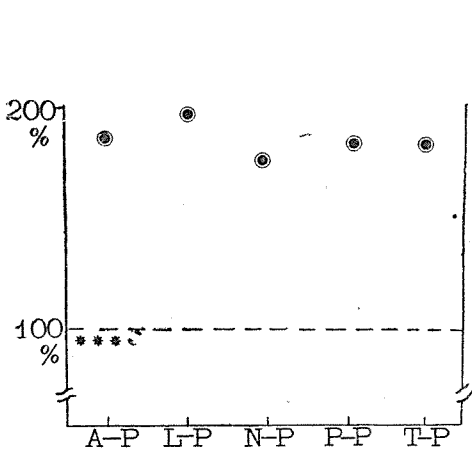


Fig. 2: Comparison of phosphorus compound content in each fraction of submaxillary gland of male rat between the amputated and the control group.

*** Mean phosphorus compound contents in each fraction of the amputated group expressed as per cent of the control group (interrupted line).

■ Protein Bound Fucose
□ Protein Bound Hexose

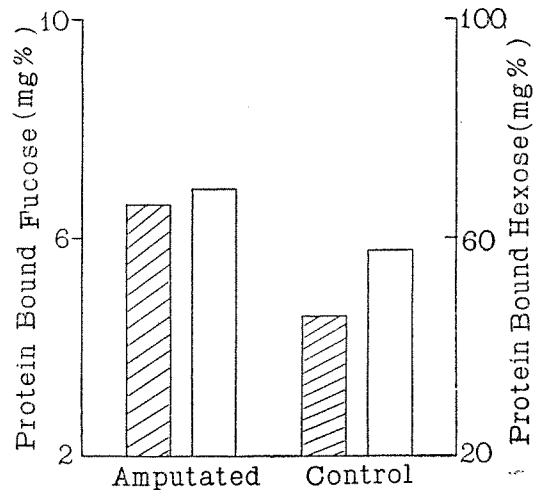


Fig. 3. Effect of periodic incisor amputation upon the protein bound fucose and protein bound hexose concentration in serum.

산화합물의 인함량은 대조군(179μg/100mg fresh tissue)에 비해 실험군(170μg/100mg fresh tissue)에서는 약 4.5% 정도 감소를 나타냈고 그중 핵산인양이 양군에서 가장 높으나 3.5%의 감소를 나타내 가장 적은 비율을 나타냈고, 단백질은 양군에서 전분회중 가장

낮은데 실험군에서 대조군에 비해 3.8%의 감소를 나타냈다.

또한 Table III와 Fig. 2.에서 보는 바와 같이 악하선 중량을 기준으로 하여 관찰한 결과는 대조군악하선중량(339mg)에 비해 실험군 악하선 중량(703mg)이 약 2배

Table III : Comparison of phosphorus compound content in each fraction of submaxillary gland of rat between the amputated and the control group.

	Amputated (20)* Mean±S. D. mg/703mg gland weight	Control (20) Mean±S. D. mg/339mg gland weight	% Change	Probability
A—P**	0.343±0.038	0.190±0.016	+85.6	p<0.01
L—P	0.403±0.062	0.205±0.030	+96.6	p<0.01
N—P	0.373±0.077	0.211±0.064	+76.9	p<0.01
P—P	0.213±0.026	0.118±0.037	+85.5	p<0.01
T—P	1.335±0.180	0.724±0.100	+85.5	p<0.01

Table IV : Effect of periodic incisor amputation upon the protein bound fucose and protein bound hexose concentration in serum.

	Amputated (20)*** Mean±S. D. *	Control (20) Mean±S. D.	% Change	Probability
**PBF (mg%)	6.6±0.51	4.5±0.25	+46.7	p<0.01
PBH (mg%)	68.9±8.8	58.6±3.0	+12.6	p<0.01

* S. D=Standard deviation

** PBF=Protein bound fucose expressed as rhamnose

PBH=Protein bound hexose expressed as galactose-mannose

*** Figure in parentheses denotes number of samples represented by experimental animals.

의 증가를 보임에 따라 각 선세포구성성분인 총인산화합물함량은 대조군에 비해 실험군이 약 85%의 증가를 보이고 있다. 이 중에서 핵산인분획은 약 77%의 증가로 제일 낮은 증가율을 보이고 있다.

3) 치아절제가 혈청 Protein Bound Fucose와 Protein Bound Hexose에 미치는 영향

Table IV와 Fig.3에서 보는 바와 같이 혈청내 protein bound fucose함량에 있어서 주기적 치아절제군(6.6 mg%)이 대조군(4.5mg%)보다 증가된 농도를 나타냈고, 또한 protein bound hexose에 있어서도 역시 대조군(58.6mg%)에 비해 실험군(68.9mg%)이 증가된 농도를 나타내고 있다.

고 찰

주기적치아절제가 백서 악하선의 hypertrophy를 이끈다는 보고 1)2)3)에 근거를 두고 악하선 hypertrophy가 단순한 세포내 수분의 증가인지 또는 수분외의 세포구성성분인 인산화합물 특히 핵산과 단백질의 증가에

의한 것인가를 구명키 위하여 본 실험에 착수하였다.

본 실험에서는 백서 상악악전치를 치은연상 2~3mm부위에서 2일 간격으로 6회 치아를 절단하여 최종절단 2일 후에 경동맥혈액을 실험시켜 혈액을 채취하고 악하선을 적출하였는데 악하선중량은 실험군에서 대조군에 비해 약 2배의 증가를 보였다. 이 결과는 Wells et al. (1959)1), Houssay et al. (1962)2)와 Perek et al. (1965)3) 등의 소견과 일치된다.

Wells et al. (1959)1)은 주기적치아절제시에 유발되는 심한외상은 치수조직내 혹은 치아주위점막내의 nerve receptor를 자극하여 inferior alveolar nerve나 또는 다른 cranial nerve를 통해서 중추신경에 전달되어 이 중추신경계에서 자율신경계의 조절 center와 연결된다고 보고한바 있다. autonomic outflow의 증가는 악하선의 세포성 hypertrophy를 초래케 된다는 주장과 일치된다. 예를들면 골격근에서와 같이 계속적인 자극은 근육의 hypertrophy를 초래한다는 것과 유사한 것이다.

총인산화합물의 인함량은 Table II에서 보는 바와 같이 대조군에 비해 실험군에서 약 4.5%정도 감소를 나타내는데 이중 핵산이 3.5%정도의 감소로 가장 적은 비율을 나타낸다는 사실은 악하선중량의 증가에 따라 핵산양이 정상에서와 같은 농도에 도달치 못한다는 것

은 비정상적으로 악하선이 hypertrophy와 hyperplasia된 것으로 사료된다.

그리고 치아절제시에 일반적인 대사조절의 관계를 구명키 위해 혈청내 protein bound fucose와 hexose의 변화를 관찰한바 실험군의 혈청내 protein bound fucose와 hexose가 대조군에 비해 각각 46.4%와 12.6%의 증가를 보였는데 일반적인 전신질환 특히 심내막염, 결핵 또는 암에서도 증가¹³⁾된다는 보고가 있으나 본 실험에서는 손상받은 치아 및 주위조직과 타액선의 mucoprotein합성에 이용되기 위하여 어떤 대사조절기전에 의해 혈청내 protein bound fucose와 hexose가 증가되는 것으로 추측하게 된다.

치아의 주기적 절제시의 백서악하선 hypertrophy는 isoproterenol 투여시의 hypertrophy와 유사하다고 Curbelo et al. (1963)¹⁹⁾과 Gamper et al. (1970)²⁰⁾등이 보고했다. 이때 악하선 hypertrophy시에 sialic acid 농도나 총합량이 증가된다고 하였고 치아절제시¹²⁾²³⁾나 isoproterenol⁸⁻¹³⁾투여시에 있어서나 serous acini의 hypertrophy와 hyperplasia는 있으나 granular tubule의 크기에는 변화가 없다고 하였다. 그리고 교감신경과 부교감신경이 타액선 hypertrophy에 중요한 역할을 한다는 것은 주지의 사실로 되었다.

혈청내 sialic acid농도가 증가됨에 따라 타액선의 sialic acid증가를 가져온다는 보고¹³⁾¹⁹⁾등으로 보아 본 실험의 혈청내 protein bound fucose와 hexose량의 증가는 이들의 보고와 일치하는 것이다.

결 론

저자는 주기적 치아절제가 악하선증량의 증가를 초래한다는 여러 연구자들의 보고에 착안하여 증량의 증가가 세포구성성분인 인산화합물 특히 핵산과 단백질합량과 어떠한 관계가 있는지 또한 혈청 protein bound fucose와 hexose농도에 어떻게 영향을 미치는가를 구명키 위하여 실험한바 다음과 같은 결과를 얻었기에 보고하는 바이다

1. 악하선증량에 있어서 2일간격으로 6회 치아절제군이 대조군에 비해 약 2배의 증가를 보였다.
2. 악하선증량의 증가에 따라 악하선내의 단백질인, 지질인, 핵산인 및 산용성인은 각각 85.5%, 96.6%, 76.9% 및 85.6%의 증가를 보였다.
3. 혈청내 protein bound fucose와 protein bound hexose농도는 실험군에서 각각 46.7%와 12.6%의 증가를 보였다.

4. 악하선내의 지질인, 핵산인, 단백질인 및 산용성인의 분포는 치아절제군이나 대조군에 있어서 거의 변동이 없었다.

(끝으로 본문을 완성함에 있어 시종 지도와 교열을 하여주신 김동순교수님과 조한국 조교수님께 심심한 사의를 표하며 임창윤 선생과 구강병리학교실원 제위 및 구강생화학교실의 정태영선생과 최근배선생에게 감사드립니다.)

REFERENCES

- 1) Wells, H., Zackin, S.J., Goldhaber, P., and Munson, P.L.: Increase in Weight of the Submandibular Salivary Glands of Rats Following Periodic Amputation of the Erupted Portion of the Incisor Teeth, Amer. J. Physiol. 196:827, 1959.
- 2) Houssay, A.B., Peronace, A.A.V., Perek, C. J., and Rubinstein, O.: Role of the Chorda Tympani in Submaxillary Hypertrophy by Incisor Amputation in the Rat, Acta physiol. lat.-amer. 12:150, 1962.
- 3) Perek, C.J., Houssay, A.B., Peronace, A.A. V., and de Halfin, J.F.: Submaxillary and Retrolingual Gland Hypertrophy by Different Incisor Amputations in the Rat, J. dent. Res. 44:683, 1965.
- 4) Wells, H., Handelman, C.S., and Milgran, E.: Regulation by Sympathetic Nervous System of Accelerated Growth of Salivary Glands of Rats, Amer. J. Physiol. 201: 707, 1961.
- 5) Wells, H., and Peronace, A. A. V.: Synergistic Autonomic Nervous Regulation of Accelerated Salivary Glands Growth in Rats, Amer. J. Physiol. 207:313, 1964.
- 6) Houssay, A.B.: Nervous and Hormonal Control of the Structure and I-¹³¹ Uptake by the Submaxillaries, Alabama J. Med. Sci. 3:312, 1966.
- 7) Alvarez Ugarte, C.A., Houssay, A.B., Perek, C.J., and Fulgenzi, S.: Papel de la Inervación Simatlcay Parasimpática en la Hipertrofia Submaxilar por Amputación de Incisivos, Rev.

- Asoc. Odont. Argent. 54:210, 1966.
- 8) Brown-Grant, K.: Enlargement of Salivary Gland in Mice Treated with Isopropyl noradrenalin, *Nature (Lond.)* 191:1076, 1961.
 - 9) Argonz, J.J.: The Action of Isoproterenol on the Salivary Gland, *Acta Physiol. lat.-amer.* 12:231, 1962.
 - 10) Selye, H., Veilleux, R., and Cantin, M.: Excessive Stimulation of Salivary Gland Growth by Isoproterenol, *Science* 133:44, 1961.
 - 11) Schneyer, C.A.: Salivary Gland Changes after Isoproterenol-induced Enlargements, *Amer. J. Physiol.* 203:232, 1962.
 - 12) Campes, H.A., and Parr, J.J.: Enlargement of the Guinea Pig Salivary Gland caused by Catecholamines or Tooth Amputation, *Europ. J. Pharma.* 2:371, 1968.
 - 13) Cataldo, E, Shklar, G., and Reid, D.P.: Submaxillary Glands treated with Isoproterenol, *Arch. Path.* 80:3, 1965.
 - 14) Shafer, W.G., and Muhler, J.G., and Muhler, J.C.: Endocrine Influences upon the Salivary Glands, *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 85:215, 1960.
 - 15) Wells, H., and Voelkel, E.F.: Partial Purification and Mode of Action of a Pancreatic Substance that enhances Salivary Gland Growth, *Abstract. I.A.D.R., March. 1963, p 123.*
 - 16) Schneider, W.C.: Phosphorus Compounds in Animal Tissues: Extraction and Estimation of Desoxypentose Nucleic Acid and of Pentose Nucleic Acid, *J. Biol. Chem.* 161:293, 1945.
 - 17) Fiske, C.H., and SubbaRow, Y.: *J. Biol. Chem.* 81:629, 1929.
 - 18) Click, D.: Methods for Determination of Serum Glycoprotein, in *Methods of Biochemical Analysis. Vol. II. p.279-312, 1959.*
 - 19) Curbelo, H.M., Devalle, J.J., Houssay, A.B., Gamper, C.H., and Tocci, A.A.: Effects of Isoproterenol upon the Sialic Acid Content of Salivary Glands in the Rat, *J. Oral Ther.* 4: 431. 1968.
 - 20) Gamper, C. H., Tocci, A. A., Houssay, A. B., Curbelo, H. M., and Deballe, J. J.: Sialic Acid Content in the Hypertrophic Submaxillary and Retrolingual Glands of Incisor Amputated Rats, *J. dent. Res.* 49: 346, 1970.
 - 21) Grad, B., and Leblond, C.P.: The Necessity of Testis and Thyroid Hormones for the Maintenance of the Serous Tubules of the Submaxillary Gland in the Male Rat, *Endocrinology*, 45:250, 1949.
 - 22) Tamarin, A.: Contemporary Salivary Gland Research, *J. Amer. Dent. Assoc.* 68:833, 1964.