

珐瑯髓의 細胞化學의 酸性多糖類反應*

서울大學校 大學院 齒醫學科 口腔解剖學 專攻
<指導金 永 昌 教授>

林 明 洙

—目 次—

- I. 緒 論
- II. 研究材料 및 方法
- III. 研究成績
- IV. 考 按
- V. 結 論
- 參考文獻

I. 緒 論

發育期齒牙에 關한 發生學의 研究는 光學顯微鏡의 開發에 따라 오래前부터 純形態學의 觀察이 盛行되어왔고, 現在에와서는 電子顯微鏡의 生物學의 部門으로의 導入으로 因하여 그微細構造가 詳細하게 究明되어 왔으며, 反面 1950年代부터 組織化學의 研究方法의 登場으로 漸次 活發化하여 1960年代에 이르러 業績 또한 數多하게 報告되어오고 있는 實情이다.

그런데 그中 本 敎室에서도 發育期齒牙에 關한 組織化學의 研究로서 沈⁽¹⁶⁾(1961), 黃⁽⁸⁾(1963), 黃等⁽⁹⁾(1966), 金⁽¹⁰⁾(1967), 高⁽¹³⁾(1968), 崔等⁽⁴⁾(1970), 崔⁽³⁾(1971), 金⁽¹¹⁾(1972), 李等⁽¹⁴⁾(1973), 朴⁽¹⁾(1974), 金⁽¹²⁾(1975) 등의 業績이 發表되어왔지만 著者가 文獻을 調査하여 보았으나, 珐瑯髓에 있어 그酸性多糖類의 動態를 細胞化學의 으로 檢討한 報告가 없어, 本 研究를 企圖하였던 바 어느程度 所見의 一端을 窺知하였기에 이를 報告하는 바이다.

II. 研究材料 및 方法

A) 研究材料

胎齡 約8週 乃至 16週의 人胎兒(6例)에서 齒胚을 含有

한 顎骨部을 切除하여 下記의 染色法에 準하여 固定한 後 眞空包埋法에 依한 7 乃至 10 μ 의 paraffin連續切片을 만들었다.

B) 染色方法

1) alcian blue (pH 1.0)染色.

固定液: absolute alcohol. sulfated mucosubstance는 靑染된다.

2) alcian blue-PAS反應(Mowry).

固定液: absolute alcohol. 中性粘液多糖類는 赤紫色, alcinophilic substance(hyaluronic acid, sialomucin)는 靑染된다.

3) aldehyde fuchsin染色(Halmi & Davies).

固定液: absolute alcohol. sulfated mucosubstance는 紫染된다.

4) colloidal iron-hematoxylin染色(Mowry).

固定液: 10% formalin. acid mucosubstance는 紺靑染된다.

5) periodic acid-paradiazine方法(Spicer).

固定液: Carnoy液. 中性粘液多糖類는 褐染된다.

6) hematoxylin-eosin染色.

III. 研究成績

杯狀期の 珐瑯器에서 珐瑯髓는 星狀의 細胞가 突起에 依하여 相互連結되어 網狀을 이루고 있으며, 細胞間質이 豊富하게 存在하였다.

이때 珐瑯髓는 內外珐瑯上皮細胞에 依하여 둘러싸여 있고, 錘狀期로 分化가 進行됨에 따라 珐瑯髓와 內珐瑯上皮사이에 2 乃至 4層의 扁平細胞로 構成된 中間層이 出現하였다.

象牙質의 最初層이 形成되고, 珐瑯質形成이 始作됨에 따라 珐瑯器의 厚徑이 줄어들며, 그結果 珐瑯髓도 縮小하여진다.

* 本 論文의 要旨는 1975年度 大韓口腔解剖學會에서 發表하였음.

alcian blue(pH1.0)染色 및 colloidal iron-hematoxylin染色에서 珐瑯髓星狀細胞의 細胞質은 靑色으로 染色되며, 中間層은 더욱染色性이 低下되었고, 內外珐瑯上皮細胞는 거의 陰性으로 보였다.

alcian blue-PAS反應에서 珐瑯髓의 星狀細胞는 淡靑染色되나, 內外珐瑯上皮細胞는 淡紫色을 呈現하였다.

aldehyde fuchsin染色에서는 珐瑯髓星狀細胞는 淡紫色을 呈示하였으며, periodic acid-paradiamine 染色에서는 黃褐色으로 好染되었다.

IV. 考 按

本 研究에서 酸性多糖類의 細胞化學的 證明法으로 alcian blue, aldehyde fuchsin 및 colloidal iron을 利用하였다.

phthalocyanine系에 屬하는 alcian blue는 Steedman에 依하여 mucin의 特異的染色法으로써 報告된 以後, 많은 研究者가 染色方法을 發表하였고, pH 2.5以下에서는 良好한 染色結果를 出現하는데, 그中 Mowry(1956)¹⁵⁾는 alcian blue-PAS反應에 依하여 中性粘液多糖類와 酸性粘液多糖類의 分別方法을 報告하였고, Spicer⁽¹⁸⁾(1965)는 alcian blue (pH 1.0)-PAS反應에 靑染되는것이 SO₄基에 基因하는 多糖類, 赤染되는것은 sialic acid 또는 中性粘液多糖類임을 證明한바있다.

또한 酸性粘液多糖類의 指示染色으로 aldehyde fuchsin도 組織化學的으로 應用되는데, 本法은 Gomori에 依하여 最初로 報告되었으며, 上皮異染性 mucin은 好染되나 酸性粘液多糖類 以外에 彈力線維도 染色된다고 한다.

그런데 Spicer & Meyer⁽¹⁹⁾(1960)에 依하면, SO₄基 以外의 酸性多糖類는 淡染성이지만, SO₄基를 가진 酸性多糖類는 強染된다고 報告하고 있다.

colloidal-iron反應은 Lison等이 鐵의 捕捉反應이라 稱하는 것으로서, 水酸化鐵 colloid의 粒子를 酸性多糖類에 結合시켜, 이를 berlin blue反應에서 靑色시키는 方法이니, 理論的으로 酸性多糖類 以外의 다른 陰荷電基가 鐵과 反應함으로 반드시 特異的이라고 할수없지만 酸性多糖類의 呈色反應으로 常用되고 있다.

무릇 齒提에서 齒胚形成이 上皮性 帽狀構造物로 成長을 營爲하게 되면, 珐瑯器內에 存在한 上皮細胞가 含血性間胚葉으로부터 隔離되어 漸次 增大하여 간다.

이때 珐瑯髓細胞는 各己 分離하여져서 形成된 狹小한 細胞間質內에 粘液多糖類를 分泌하기 始作하며, 加水分解에 依한 成分과 水分이 細胞間隔內를 充滿하게 된다.

即 珐瑯髓細胞의 細胞體에서 突起物의 派生으로 珐瑯

髓發育增大의 原因을 이루고, 各 珐瑯髓細胞사이에서 介在한 細胞間隔에는 水分과 粘液多糖類가 充滿하게 되는 것이다.

本 研究 結果를 綜合하건데, 珐瑯髓細胞의 酸性多糖類反應은 alcian blue (pH 1.0)에는 sulfated mucosubstance, alcian blue-PAS反應에서는 hyaluronic acid, aldehyde fuchsin에는 sulfated mucosubstance, colloidal iron에서는 acid mucosubstance를 檢鏡할수 있었다.

珐瑯髓의 役割은 成長되어가는 齒胚을 保護하며, 또한 齒壤內에서 齒牙硬組織(珐瑯質, 象牙質)의 齒冠部發育를 爲하여 充分한 間隔을 維持함에 있겠고, 또한 珐瑯髓에는 酸性多糖類가 豊富하게 含有되어 있으므로, 珐瑯基質形成에 必要한 糖蛋白複合體를 合成하기 爲하여 酸性多糖類를 供給함에 있다고 思考한다.

V. 結 論

1) 珐瑯髓에 있어 酸性多糖類의 細胞化學的 反應은 alcian blue, colloidal iron 및 aldehyde fuchsin의 染色法에 依하여 實施하였다.

2) 珐瑯髓細胞에는 SO₄基性 粘液物質이 多含有되었고, 아울러 COOH基性 粘液多糖類도 內在하였다.

(始終指導校閱하여 주신 金永昌教授님께 深謝하였으며 助言과 鞭撻을 해주신 劉鍾德 教授님 黃聖明教授님, 金明國教授님, 高在丞教授님께 感識드립니다.)

參 考 文 獻

- 1) 朴斗桓: 人齒胚의 發育期 象牙質에 있어 纖維成分과 粘液多糖類에 關한 組織化學的 研究. 最新醫學, 17: 933, 1974.
- 2) Bevelander, G. & Johnson, P.L.: The localization of polysaccharides in the developing teeth. J. Dent. Res., 34:124, 1955.
- 3) 崔奉燮: 人齒胚의 珐瑯 및 象牙質 形成期에 있어서 組織化學的 蛋白反應에 關한 研究. 最新醫學, 14:439, 1971.
- 4) 崔奉燮, 姜信亨, 高在丞: 人齒胚의 珐瑯 및 象牙質 形成期에 있어서 組織化學的 磷酸反應. 最新醫學, 13: 143, 1970.
- 5) Engel, M.B.: Glycogen and carbohydrate-protein complex in developing teeth of the rat. J. Dent. Res., 27:681, 1948.
- 6) Fitzgerald, L.R.: Mechanisms controlling morphogenesis in developing teeth. J. Dent.

Res., 48:726, 1969.

- 7) Fullmer, H.M. & Alper, N.: Histochemical polysaccharide reactions in human developing teeth. Laboratory Investigation, 7:163, 1958.
- 8) 黃聖明: 琺瑯 및 象牙質形成期에 있어서 alkaline phosphatase와 脂質의 組織化學的 研究. 綜合醫學, 8:1585, 1963.
- 9) 黃聖明, 嚴基澤, 韓亨鎮, 金永昌: 家兔齒胚의 琺瑯 및 象牙質形成期에 있어서 酸性粘液多糖類의 組織化學的 反應. 韓國齒科公論, 2:46, 1966.
- 10) 金爽潤: 人齒胚의 琺瑯 및 象牙質形成에 있어 類脂肪에 關한 組織化學的 研究. 綜合醫學, 12:909, 1967.
- 11) 金永植: Pyridoxine 投與한 白鼠 琺瑯質形成에 있어 組織化學的 羧酸反應에 關한 研究. 齒協誌, 10:207, 1972.
- 12) 金文祚: 人齒胚의 齒乳頭에 있어 粘液多糖類生成과 上皮橫隔에 關한 研究. 齒協誌, 13:661, 1975.
- 13) 高在丞: 人齒胚의 琺瑯 및 象牙質形成期에 있어서 糖蛋白에 關한 組織化學的 研究. 綜合醫學, 13:657, 1968.
- 14) 李英達, 宋完榮: 人齒胚의 象牙質形成에 있어서 石
- 15) Mowry, R.W.: Alcian blue technique for the histochemical study of acidic carbohydrates. J. Histochem. Cytochem., 4:907, 1956.
- 16) 沈泰錫: 家兔齒牙에 있어서 組織化學的 核酸反應 (2), 幼弱 家兔齒胚에 있어서 核酸의 分布. 大韓醫學協會誌, 4(2):123~124, 1961.
- 17) Sicher, H. & Bhaskar, S.N.: Orban's oral histology and embryology. The C.V. Mosby Co. 1972.
- 18) Spicer, S.S.: Diamine methods for differentiating mucosubstances histochemically. J. Histochem. Cytochem., 13:211, 1965.
- 19) Spicer, S.S. & Meyer, D.B.: Histochemical differentiation of acid mucopolysaccharides by means of combined aldehyde fuchsin alcian blue staining. Am. J. Clin. Path., 33:453, 1960.
- 20) Wislocki, G.B. et al.: Some histochemical reactions of mucopolysaccharides, glycogen, lipids and other substance in teeth. Anat. Res., 101:487, 1948.

.....Abstract.....

CYTOCHEMICAL REACTION ON THE ACID POLYSACCHARIDE OF THE ENAMEL PULP IN HUMAN FETUS TOOTH.

Dept. of Oral Anatomy, Graduated School, Seoul National University.

(Directed by Prof. Kim, Young Chang, D.D.S.)

Lim Myoung Su, D.D.S.

The author observed cytochemically the acid polysaccharide reaction of the enamel pulp in the developmental stage of human fetus tooth germ.

The developing tooth germs were removed from the upper and lower deciduous molar regions of 6 human fetuses, ranging from 8 to 16 weeks of age.

They were fixed in 10% formalin, absolute alcohol, Carnoy's solution, and were embedded in paraffin of vaccum bottle without decalcification.

The serial sections were histochemically stained by alcian blue(pH 1.0)reaction, alcian blue-PAS reaction (Mowry), aldehyde fuchsin stain (Halmi & Davis), colloidal iron-hematoxylin stain (Mowry), periodic acid-paradiazine method (Spicer).

The comparative staining method was hematoxylin-eosin stain.

The results were as follows:

The enamel pulp contained large amount of acid polysaccharides. It seemed that most of them were sulfated mucosubstances, but carboxylated mucosubstances were also appeared.

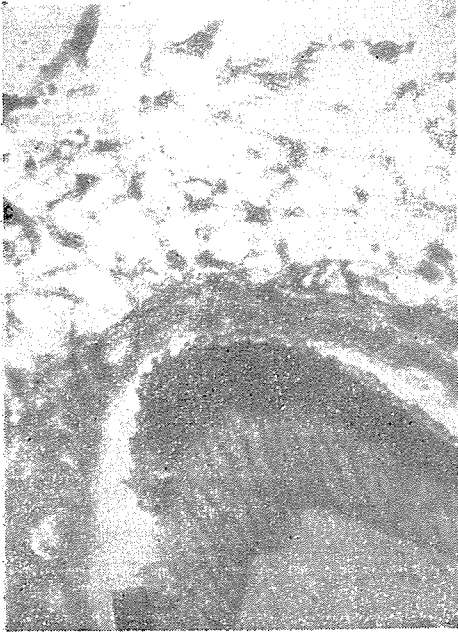


Fig. 1: Hyaluronic acid reaction in the enamel pulp cell during the hard tissue formation.

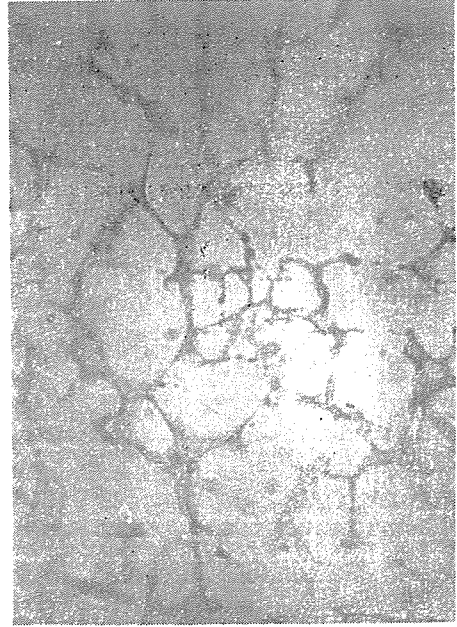


Fig. 2: Sulfated mucosubstance reaction by aldehyde fuchsin stain.

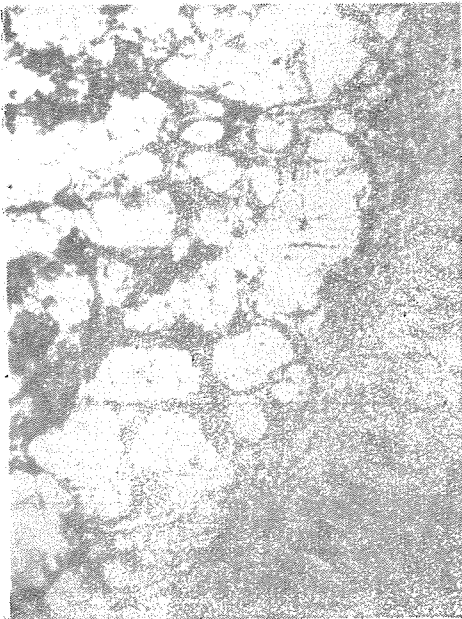


Fig. 3: Acid mucosubstance reaction by colloidal iron-hematoxylin.

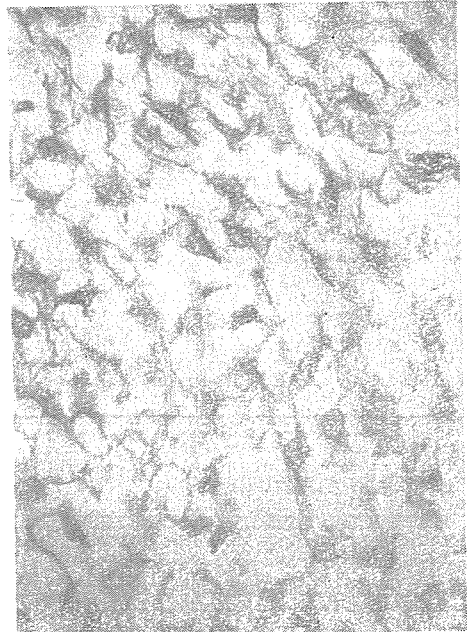


Fig. 4: Neutral mucopolysaccharide reaction in the enamel pulp cell by periodic acid-paradiamine method.