

白鼠에 있어 下顎位置變動 및 藥物投與가 顎關節 및 齒牙組織의 組織像 및 數種成分의 變動에 미치는 影響

서울대학교 齒科大學 齒科藥理學教室

副教授 丁 東 均

1. 緒 論

臨床적으로나 實驗動物에 있어 不正咬合으로 口腔領域의 여러 機能的 또는 器質的 變化 또는 障害가 招來된다는 것은 周知의 事實이다.

禹¹⁾ 및 Enger²⁾ 등은 白鼠下顎前齒部位에 inclined plane을 造成함으로써 下顎을 後方으로 變位하면 咀嚼筋의 運動 및 代謝에 甚대한 影響을 미치며 이런 變化는 抗不安藥인 Diazepam에 依해서 더욱 甚해지는 傾向을 보인다고 하였다.

下顎의 前方 및 後方變位로 因해서 招來되는 TM-joint에 關한 動物實驗에 있어서 여러 異論이 있었다. Breiter³⁾는 成熟한 macaque monkey에서 condyle 및 fossa의 remodelling과 더불어 顎關節의 分명한 組織反應을 報告한바 있고 Hiniker⁴⁾ Ramfjord⁵⁾ 및 Meikle⁶⁾은 一般의 이거나 또는 變性型의 些少한 顎關節變化만을 報告하였다. 若年 macaque monkey에 對한 實驗에서도 TM-joint에 對한 下顎變位の 效果는 一致하지 않았다. Baume⁷⁾은 下顎의 前方變位로 condyle後方の 顯著한 成長促進效果를 報告한바 있으나 反對로 Risinger⁸⁾은 condyle의 後方 및 垂直變位로 些少한 變化만을 發見하였다. Charlier⁹⁾ 및 Folke¹⁰⁾은 白鼠를 實驗動物로서 供試하였는데 Charlier⁹⁾은 下顎을 前方變位하였을때 condylar cartilage의 prechondroblastic 및 chondroblastic zone의 肥厚를 報告하였고 Folke and Stallard¹⁰⁾은 下顎前齒部位에 inclined plane을 裝着하고 下顎을 後方으로 變位하였을때 condylar cartilage cells의 새로운 骨形成의 增加가 있었으나 fossa에는 些少한 變化가 있었고 disc에는 變化가 없었다고 報告하였다.

이와같이 咬合을 높여주었을때의 顎關節의 變化는 著者에 따라 여러 異論이 있고 높은 咬合에 因한 根端部組織의 化學的所見에 對해서 아직 接할 機會가 없었다.

한편 Diazepam은 Benzodiazepine系統의 抗不安藥으로서 中樞性筋弛緩作用이 있어 臨床적으로 廣範圍하게 使用되고 있으며¹¹⁾ T-Mjoint dysfunction syndrome의 治療藥物로서¹²⁾ 그리고 全身麻痺의 誘導藥物로서도 利用되고 있을 뿐만 아니라 局所麻痺藥의 有用한 補佐藥으로서도¹³⁾ 利用되고 있다. 獨特한 副作用으로서는 食慾을 促進하며 體重增加를 招來하는 것이다¹⁴⁾ Diazepam이 엄격한 臨床實驗에서 placebo나 Aspirin以上の 筋肉弛緩作用이 있는것 같지는 않다고 하지만 現今 臨床적으로 中樞性筋弛緩藥物로서 廣範圍하게 使用되고 있다는 것을 周知의 事實이다.

이런 모든 點을 참작하여 著者은 白鼠에 있어 下顎의 後方變位와 Diazepam投與가 顎關節의 顯微鏡的所見 및 齒髓組織과 tooth germ에 해당하는 齒髓組織의 蛋白質에 미치는 影響을 觀察하였기에 그 結果를 報告하는 바이다.

II. 實驗材料 및 方法

1) 動物實驗 : 130gm內外의 白鼠를 性的 區別없이 一定期間 市販固形飼料로서 飼育한 後에 實驗에 供試하였다. 實驗動物은 二大群으로 大別하여 第一群은 下顎骨의 後方變位만 시켰으며 第二群은 下顎骨의 變後方位와 同時에 Diazepam을 每日 5mg씩 腹腔內注射하였다. 各群의 實驗動物은 屠殺할때까지 體重을 測定하였으며 實驗始作後 4日째에 實驗群白鼠 14마리를 正常群 7마리와 同時에 Ether麻痺下에 屠殺하여 齒髓와 tooth germ에 해당하는 齒髓組織(以後 tooth germ이라고 稱함)을 摘出하여 pooling한 試料를 polyacrylamide gel electrophoresis하였고 實驗開始後 1週日 및 2週日째에는 各各 7마리씩을 Ether麻痺下에 下顎頭를 切除하고 鏡檢用 試料로서 供與하였다.

下顎骨의 後方變位를 위해서는 Ether로 輕麻酔한 白鼠의 下顎前齒를 Alginate로 印像採得한 後에 model上

에서 上下顎사이의 gap이 2,5~3.0mm가 되도록 inlay wax로 crown을 조각하여 銀으로 casting하였고 第一群은 pentobarbital麻醉下에 銀冠을 裝着하였으나 第二群은 diazepam前處置後 ether麻醉下에 裝着하였다(Fig 1. 参照)

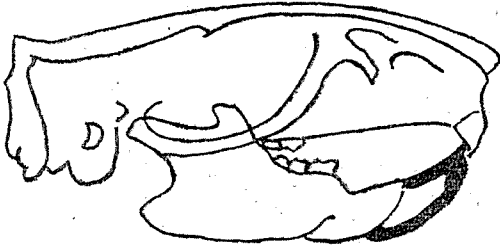


Fig. 1 The method of mandibular displacement. High inclined plane was introduced by creating 2.5-3.0mm gap between incisors.

2) 顎關節試料의 鏡檢을 爲한 處置: 試料을 10%의 中性緩衝 formalin으로 3日間 固定하였고 脫灰는 5.5% versene(0.2M phosphate buffer, pH 7.4)으로 2週日間 實施하였다. 眞空包埋法에 依하여 paraffin包埋한 後 矢狀縫合切斷하여 7 μ m의 切片을 만든 다음 Hemat-

oxylin-eosin 染色하여 比較 鏡檢하였다.

3) 化學實驗: 銀冠으로 裝着한 下顎의 前齒 齒髓와 tooth germ을 摘出하여 周圍結締 組織을 除去하고 生理食鹽水에 洗滌하여 餘分의 水分을 없애고 正常群과 實驗群의 齒髓와 tooth germ을 各各 14개 내지 28개씩 pooling하여 0.01M Sod. phosphate buffer (pH 7.0)로 homogenize한 後에 phosphate buffer로 最終量이 1ml가 되도록 한後에 SDS (Sod. dodecyl sulfate)와 β -mercaptoethanol을 1%가 되도록 添加하였다. 二後 boiling water bath에서 2分間 煮沸한 後 室溫에서 dialysis한 試料을 Weber and Osborn¹⁴⁾의 sod. dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis method로 electrophoretic pattern을 實驗하였다. Electrophoresis는 1:1 diluted gel buffer中에서 tube當 8mA의 一定電流로서 4時間 施行하였다.

III. 實驗成績

1) 體重變動: Table 1에서와 같이 4日의 實驗期間中 正常群은 19.7%나 增加한데 反하여 實驗群은 3.6%만 增加하였기 때문에 正常群이 5.5倍나 더 增加한 結果가 된다.

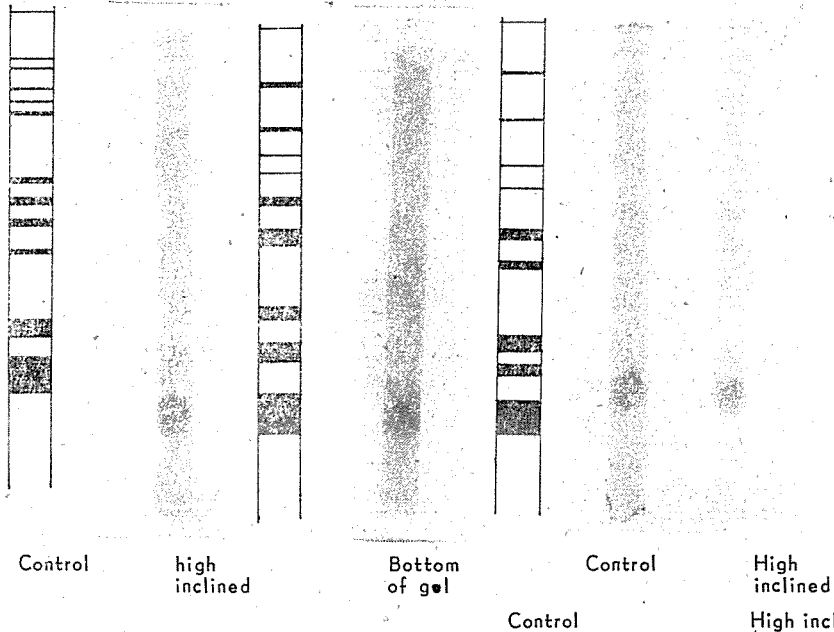


Fig. 2 Polyacrylamide gel patterns of pulp proteins stained with Coomassie brilliant blue. These samples were pooled from control and high inclined experimental groups.

Fig. 3 Polyacrylamide gel patterns of pulp tissues to be suppressed the tooth germ stained with Coomassie brilliant blue. These samples were pooled from control and high inclined experimental groups.

Table 1. The effect of mandibular displacement on the changes of body weights.

	Before Experiment	4th day after mandibular displacement	Rate of increase(%)
Control groups	138gm (7)	143gm (7)	19.7%
Experiment groups	137gm (14)	164gm(14)	3.6%

() indicate the number of animals.

2) 齒髓 및 tooth germ의 electrophoretic pattern.

齒髓組織에 있어서는 Fig.2의 polyacrylamide disc gel electrophoresis한 gels와 composite diagram에서 보는바와같이 正常群과 實驗群에서 蛋白質의 染色數와 gel에서의 位置에 變動이 없었으며 兩群은 同一한 11개의 band를 나타내고 있다.

Tooth germ에서는 Fig.3에서 보는 바와 같이 正常群과 實驗群의 蛋白質이 9개의 band로 分類되었다. band의 位置는 若干의 變動이 있어 正常群에 比하여 實驗群의 gel에서 3번째로부터 8번째까지의 band의 位置가 輕微하게 下降하였다.

3) 顎關節의 顯微鏡의 所見

正常群의 所見: 關節帶, 增殖帶, 肥大帶와 軟骨浸食 및 化骨帶가 下顎頭에서 觀察된다. 關節帶는 치밀結合組織으로서 膠原線維束이 主로 前後方向으로 走行하고 있으며 膠原線維束사이에서 線維細胞의 4~5核은 表面에서 長橢圓形이었으나 그 下部에서는 橢圓形 乃至 球形이었다.

增殖帶에는 6~12열의 細胞들이 比較的 치밀하게 밀집되어 있는 편이었고 細胞의 核은 球形, 또는 橢圓形이었다. 細胞分裝狀은 거의 보이지 않았으며 간혹 軟骨小腔 內에 있는 軟骨細胞가 觀察되었다. 細胞間質은 比較的 小量으로 存在하며 鹽基好性이었다. 肥大帶에서 增殖帶의 直下部에 있는 基質形成層에는 分化된 軟骨細胞들이 機能的인 크기에 到達할때까지 커지게 되며 細胞間質은 比較的多量으로 含有되어 있었고 鹽基好性이었다. 基質形成下部에는 細胞肥大層이 있는데 3~6열의 軟骨細胞들이 나타난다. 各細胞는 個個의 軟骨小腔內에 存在하는 것이 大部分이다. 간혹 同原細胞들이 少數 나타났나 軟骨細胞는 3倍程度 肥大되어 있었으며 細胞質은 中等度의 鹽基好性이었고 空胞가 出現하였는데 細胞質이 편측으로 치우쳐 있는 경우가 많았고 또 細胞質溶解 및 核溶解現像을 볼 수 있었다. 軟骨囊은 比較的 強한 鹽基好性이며 細胞間質은 매우 얇아져 있었다. 軟骨浸食 및 化骨帶에서는 軟骨基質이 石灰化되고 軟骨腔內의 血管이 豊富한 骨髓組織이 浸透하여 石灰化된 軟骨基質이 吸收되며 그結果 많은 石灰化된 軟骨基質殘渣가 보이고 또 이 軟骨片이 骨質로 덮여 있어 骨의 新生을 볼 수 있

었다.

實驗群의 所見: 一週群과 二週群에 있어서 所見上的 큰 差異點은 없었다. 動物에 따라서 相異한 所見을 볼 수 있었으나 많은 例에서 關節帶와 關節面에 接한 關節軟骨이 比較的 正常的 構造를 보였다. 一般的으로 筋肉이 附着하고 있는 部位에서 前方에서는 硬組織吸收가 있었고 同時에 後方에서는 硬組織의 增大가 보였다. 硬組織의 增大가 이러한 部位에서는 增殖帶의 厚徑이 增加하였고 특히 肥大帶의 顯著한 增加가 나타났다. 即 肥大帶에서 軟骨細胞의 極甚한 肥大와 基質形成이 增加하고 同原細胞들이 多數 出現하였으며 그結果 顯著한 間質形成이 이루어지고 있었다. 아울러 基質은 強度의 鹽基好性으로 보였다. 또한 下顎頭의 顎部에서 膜內化骨에 依한 骨의 添加가 顯著하였다.

한편 硬組織吸收가 이러한 部位에서도 關節帶는 正常的으로 存在하였으며 關節軟骨下骨에서 破骨細胞에 依한 骨吸收가 보였고 어떤 例에서는 關節軟骨部까지 骨吸收가 進行되며 樑狀의 關節軟骨殘渣가 存在하였다. 이때 吸收되고 있는 內腔에는 間隙조직으로 充滿되어 있었고 破骨細胞가 Howship小腔에 出現하였다. 動物에 따라서는 단순히 增殖帶의 厚徑이 增加되는 所見을 보인 例도 있었으며 어떤 動物에서는 筋肉附着이 없는 關節面下部의 關節軟骨이 吸收되고 있었는데 이때 增殖帶는 두터워져 있고 細胞들이 散在한 中에 破骨細胞가 보였으나 關節帶는 正常的인 構造를 하고 있었다.

IV. 考 察

白鼠는 食餌를 攝取하는 中에 ingestive cycle과 masticatory cycle을 反覆하면서 食餌의 resistance에 抵抗해서 飲食을 攝取할 수 있다^{15, 16)} 그런데 白鼠의 下顎前齒部에 casting crown을 装着하며 上下顎前齒部間隙이 2.5~3.0mm가 되도록 high inclined plane을 形成하면 咀嚼障礙를 招來함으로 食餌攝取가 不充分해지기 때문에 實驗群의 體重增加率은 正常群의 것보다 顯著하게 (1/5.5) 적었다고 思料된다.

本實驗의 齒髓蛋白質의 electrophoretic pattern은 11개의 band로 구성되었고 正常群과 實驗群사이에는 變動이 없었다. 이 實驗成績은 우등¹⁷⁾이 14개의 band를 報告한것과 比較해서 差異가 있으나 이것은 electrophoresis作動持續時間 및 電流強度의 差異등에 因한 듯하다 우등은 tube當 5mA를 使用한데 比하여 本實驗에서는 tube當 8mA를 使用하였다.

Tooth germ의 electrophoretic pattern은 正常群이나 實驗群이 다 같이 9개의 band로 구성되었고 band의 位置는 若干의 變動이 있어 正常群에 比하여 實驗群의 gel에서 3번째로부터 8번째까지의 band가 輕微하게

下降되는 傾向을 보였으나 大差는 없는듯 하였다. 實驗群의 electrophoresis band의 이런 輕微한 下降傾向은 末端部에 加해진 overload에 因한 tooth germ의 機能의 變化에 依한 것인지는 分明치 않다. 다만 tooth germ에 比해서 齒髓組織에 band가 2개나 더 많았고 分子크기가 比較的 큰 것들이 있었다는 것은 現在로서는 解釋하기 어려우나 齒髓組織과 tooth germ과는 蛋白構成成分의 差異가 있을것이 分明하다.

Johnson^{18, 19}은 joint remodelling을 progressive, regressive 및 peripheral remodelling의 3가지로 分類한바 있으며 Ogston^{20, 21}은 articular remodelling이 articular cartilage內的 focus of central growth로부터 始作된다고 하였다.

本實驗에서 顎關節의 組織所見을 觀察하기 위해서 1週日 내지 2週日間の 實驗期間을 擇한 것은 Folke and Stallard¹⁰가 autoradiographic study에서 2週間の 實驗期間後 가장 뚜렷한 Mitotic Activity를 보았기 때문이다. 本實驗結果는 macaque monkey에서 下顎을 retrusion하였을때 condyles의 後方部位에 resorption을 이끈다고 한 Breitner³, Ramfjord and Hiniker⁵ 및 Meikle⁶ 등의 實驗成績과는 相反된다.

그러나 白鼠는 postglenoid process가 없으므로 下顎의 後方變位에 對한 아무런 解剖學的障壁도 없기 때문에 白鼠에 있어 condyles에 對한 stress의 增加가 resorption이 아닌 增殖을 이끈다는 것은 極히 合理的이다. 이런 本實驗成績은 Charlier⁹, Folke and Stallard¹⁰, 및 Ingervall²² 등과 類似하였다.

下顎變位와 同時에 Diazepam을 投與한 群에 있어서는 下顎變位群과 거의 類似한 組織所約像을 보였다. 禹는 下顎變位로 招來되는 咀嚼筋代謝過程의 變動이 Diazepam投與로 더욱 뚜렷해진다고 하였으나 顎關節에 對한 影響은 없는 듯 하다.

V. 結 論

白鼠에 있어 high inclined plane과 Diazepam이 顎關節의 組織所見 및 齒髓組織과 tooth germ에 해당하는 齒髓組織의 蛋白質에 미치는 影響을 觀察코저 130 gm程度의 白鼠를 二大群으로 大別하여 第一群은 下顎의 後方變位만 시켰으며 第二群은 下顎骨의 後方變位와 同時에 Diazepam을 每日 5mg씩 腹腔內注射하였다 4日제에 屠殺한 群은 齒髓 및 tooth germ에 該當되는 齒髓組織을 sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis하였고 1週日 및 2週日에 屠殺한 것은 顎關節의 顯微鏡의 所見을 관찰하여 다음과 같은 結論을 얻었다.

1) 實驗始作後 4日間の 觀察에 있어 正常群의 體重增

加率은 實驗群의 것의 約 5.5배였다.

2) Electrophoretic pattern에 있어 齒髓蛋白質은 11개 tooth germ蛋白質은 9개의 band를 보였다.

3) 顎關節의 前方에서는 硬組織의 吸收가 있었고 後方에서는 硬組織의 增大가 보였다.

4) Diazepam投與는 electrophoretic pattern이나 顎關節에 影響을 미치지 못하였다.

(끝으로 本實驗을 完遂함에 있어 積極協助하여 주신 生化學研究의 鄭泰英教授, 組織學研究室의 高在丞先生님 및 齒科藥理學研究室의 金寬植先生에게 眞心으로 謝意를 表하는 바이다.)

REFERENCES

- 1) 禹相民 : 下顎骨變位가 咀嚼筋의 數種成分의 變動에 미치는 影響에 關한 實驗的研究 J. Korean Acad. Prosth. 14 : 55, 1976.
- 2) Enger E., Freden H., Haljamäe H. and Ingervall B. : Effects of mandibular displacement on the metabolic activity of the masseter muscle in rat. Archs oral Biol. 20, 7. 1975.
- 3) Breitner, C. : Further investigations of the bone changes resulting from experimental orthodontic treatment. Am. J. Orthodont. 27, 605, 1941, Cited from Arch. oral Biol. 17, 661, 1972
- 4) Hiniker, J. I. and Ramfjord, S.P. : Anterior Displacement of the Mandible in adult Rhesus Monkeys. J. Prosthet. Dent. 16, 503, 1966.
- 5) Ramfjord, S.P. and Hiniker, J.I. : Distal Displacement of the Mandible in Adult Rhesus Monkeys. J. Prosthet. Dent. 16, 491, 1966.
- 6) Meikle, M.C. : The effect of class II intermaxillary force on the dentofacial complex in the adult Macaca Mullata Monkey, Am. J. Orthodont. 58, 323, 1970.
- 7) Baume, L.J. and Derichsweiler, H. : Is the condyler growth center responsive to orthodontic therapy? Oral Surg. 14, 347, 1961.
- 8) Risinger, R.J. and Glanely, A.A. : Effects of vertical forces on the mandible and total face height. Am. J. Orthodont. 58, 151, 1970.
- 9) Charlier, J.P., Petrovic, A. and Herrmann-Sutzmann, J. : Effects of mandibular hyperpropulsion on the prechondroblastic zone of

- young rat condyle. *Am. J. Orthodont.* 55, 71, 1969.
- 10) Folke, L.E.A. and Stallard, R.E. : Condyle adaptation to a change in intermaxillary relationship. *Periodont. Res.* 1, 79, 1966.
 - 11) Goodman, L.S. and Gilman A. : The pharmacological basis of therapeutics. p.180, 4th ed. The Macmillan Company 1971.
 - 12) Avery, G.S. : Drug Treatment : Principles and practice of clinical pharmacology and therapeutics. p.317, ADIS press, Sydney, 1976.
 - 13) Avery G.S. : Drug Treatment : Principles and practice of clinical pharmacology and therapeutics. p.221, ADIS press, Sydney, 1976.
 - 14) Klaus Weber and Mary Osborn : The Reliability of Molecular Weight Determinations by Dodecyl Sulfate-Polyacrylamide Gel Electrophoresis. *J. Biol. Chem.* 244, 4406, 1969.
 - 15) Hiiemae K. and Houston W, J.B. : The structure and function of the jaw muscles in the rat (*Rattus norvegicus* L.) I. Their anatomy and internal architecture. *Zool J. Linn. Soc* 50, 75. 1971.
 - 16) Hiiemae K. : The structure of the jaw muscles in the rat (*Rattus norvegicus* L.) III. The mechanics of the muscles. *Zool.J.Linn. Soc.*, 50, 111, 1971.
 - 17) 우광덕·정태영 : 치아절제시 타액선 및 치수 단백질의 변동에 관한 연구. 대한치과 구강병리 학회지 1,5, 1976
 - 18) Johnson, L.C. Joint Remodelling as the Basis for Osteoarthritis. *J. Amer. vet. med. Ass.*, 141, 1237, 1962
 - 19) Johnson, L.C. : Kinetics of Osteoarthritis. *Lab. Invest.* 8, 1223, 1959. Cited from H. J. J. Blackwood : Cellular Remodelling in Articular Tissue. *J. Dent. Res.* 45 480, Supplement to No. 3, 1966
 - 20) Ogston, A. : Articular Cartilage, *J. Anat. & Physiol.* 10, 49, 1875
 - 21) Ogston, A. : On the Growth and Maintenance of the articular Ends of the Bones. *J. Anat. & Physiol.* 12, 503, 1878. Cited from H.J.J. Blackwood : Cellular Remodelling in Articular Tissue. *J. Dent. Res.* 45, 480, Supplement to No. 3, 1966,
 - 22) Ingervall B., Freden H. and Heyden G. : Histochemical study of mandibular joint adaptation in experimental posterior mandibular displacement in the rat. -*Archs oral Biol* 17, 661, 1972.

..... >>Abstract<<

THE INFLUENCES OF MANDIBULAR DIISPLACEMENT AND A DRUG
ON THE MICROSCOPIC FINDING OF T-M TOINT AND THE
SEVERAL COMPONENTS OF THE PULP AND TOOTH GERM.

Dong Kyun Cheong, D.D.S., Ph.D.

Dept. of Dental Pharmacology, College of Dentistry. S.N.U.

The influences of the posterior displacement of mandible and diazepam administration on the morphology of condyle and protein of the pupal tissue and tooth germ were studied in this investigation. The growing rats weighing approximately 130 gm of body weight were employed in this experiment.

Rats were divided into 2 major groups, one of which was the group of the posterior displacement of mandible and the other was the group of mandibular displacement plus diazepam administration (5 mg once a day intraperitoneally until sacrificed).

The first subgroup was sacrificed at 4th day after mandibular displacement and then the electrophoretic mobility of the protein from pulp and tooth germ were plotted by sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis.

The 2nd and 3rd subgroup were sacrificed at 1week and 2week after mandibular displacemant, respectively and then microscopic findings of the condyle were studied.

Results were as the followings;

1. The increasing rate of the body weight was much greater in normal rats than in experimental rats.
2. According to electrophoretic pattern, the numbers of the band of pulp were 11 and these of tooth germ were 9.

And significant changes of these pattern of experimental group against control group were not observed.

3. In the microscopic findings, bone resorption of the condyle was observed in the anterior portion while hyperplasia in the posterior portion was oberved.
4. Administration of diazepam did not exert significant influences on both condyle morphology and electrophoretic pattern of the pulp and tooth germ.

《丁東均寫真附圖說明》

Fig. 4~9 Photomicrograph of anteroposterior section of the mandibular condylar cartilage. Hematoxylin-eosin stain

Fig. 4: Control finding. Orig. mag. $\times 100$. Note the typical articular zone, proliferative, hypertrophic zone and zone of erosion and new bone formation.

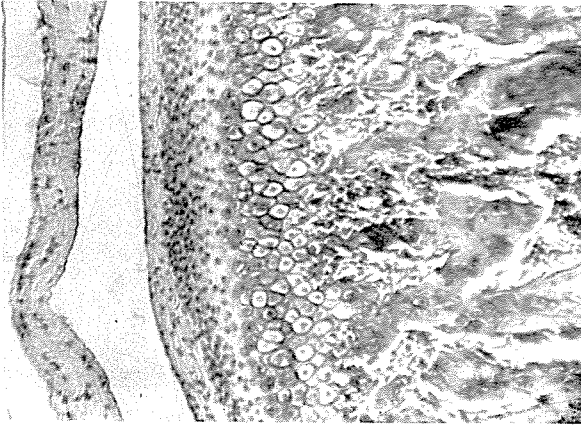
Fig. 5: Experimental rat. Orig. mag. $\times 100$. Note the increased proliferative zone and marked interstitial growth of the hyaline cartilage in the area of progressive remodelling

Fig. 6: Experimental rat. Orig. mag. $\times 100$. Note the increase in the thickness of the proliferative zone

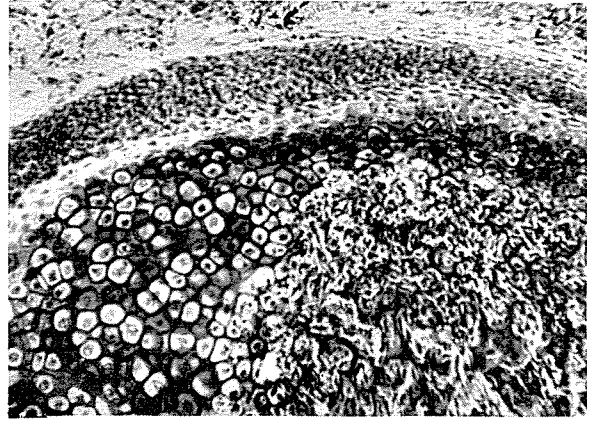
Fig. 7: Experimental rat. Orig. mag. $\times 100$. Note the regressive remodelling of the mandibular condyle. The resorption was occurred at the muscle insertion area.

Fig. 8: Experimental rat. Orig. mag. $\times 100$. Note the resorption in the hyaline cartilage and intact articular fibrous covering

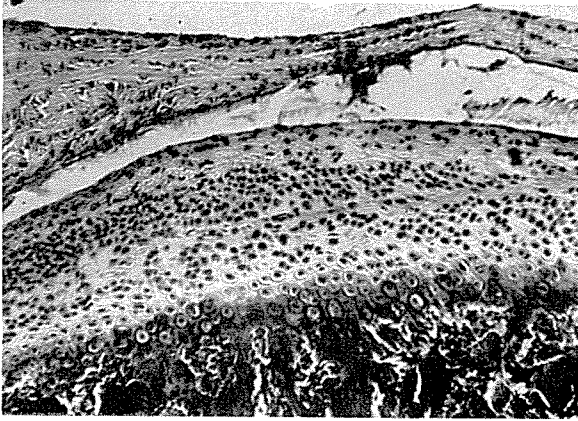
Fig. 9: Experimental rat. Orig. mag. $\times 400$. Note the osteoclast at the cartilage resorption area adjacent proliferative zone.



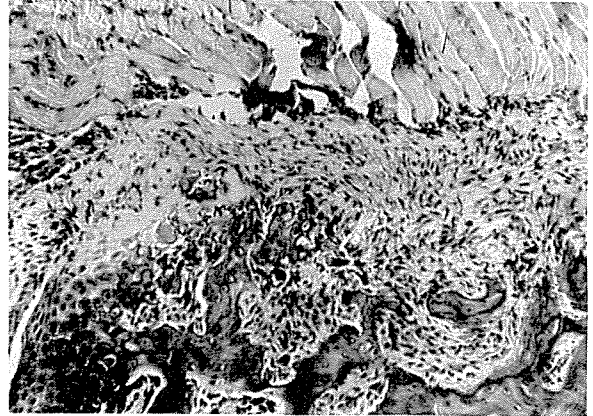
4



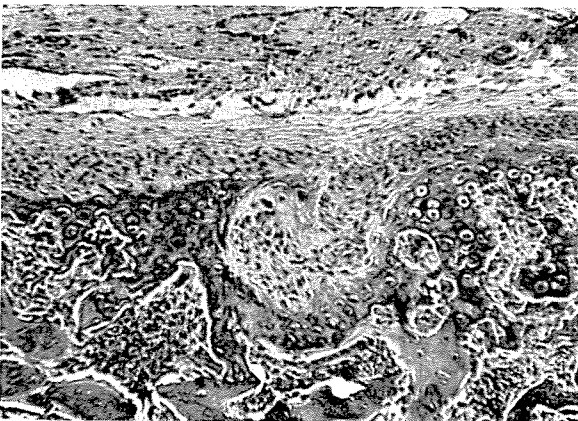
5



6



7



8



9