

# PHENOL이 未固定 造象牙細胞에 미치는 影響에 關한 位相差顯微鏡的 研究

서울대학교 大學院 齒醫學科 補綴學 專攻

〈指導教授 張 完 植〉

洪 景 澤

## —目 次—

- I. 緒 論
- II. 實驗材料 및 方法
  - 1. 實驗材料
  - 2. 實驗方法
- III. 實驗成績
  - 1. 生理食鹽水에서의 觀察
  - 2. Phenol 水溶液에서의 觀察
- IV. 總括 및 考按
- V. 結 論
  - 參考文獻
  - 英文抄錄
  - 寫眞附圖

## I. 緒 論

象牙質形成에 關與하는 造象牙細胞의 細胞學的 研究에 對하여는 많은 業績이 報告되어 오고 있다. <sup>1),2),3),4),5)</sup> 그러나 이들 大部分의 研究들은 組織의 固定 및 脫灰切片標本에서 얻어진 所見으로 生活狀態下에서의 造象牙細胞의 形態 및 微細構造에 關한 研究業績은 極히 稀少한 바, Kramer<sup>6)</sup>가 未固定狀態下에서 觀察한 것 以外에 筒井<sup>7)</sup>, 島原<sup>8)</sup> 등의 位相差顯微鏡을 利用한 未固定造象牙細胞의 微細構造에 對한 研究業績들이 있다.

位相差顯微鏡은 周知하는 바와 같이 無色透明한 標本에서 그 內部 構造物間的 屈折率 및 厚徑의 差 卽位相差를 明暗의 差로써 肉眼에 投影시키는 特殊性을 利

用한 顯微鏡으로 一般 光學顯微鏡에서와 같이 組織의 固定 및 染色과 같은 過程을 施行하지 않고도 生活細胞 또는 生活組織 自體의 微細構造를 觀察할 수 있는 特殊顯微鏡으로 最近 電子顯微鏡과 함께 齒醫學 分野의 研究에 利用되고 있다. <sup>9),10)</sup>

특히 齒髓의 研究에 있어서는 齒髓組織의 周圍가 硬組織으로 包圍되어 있기 때문에 組織標本製作時의 固定 및 脫灰操作時에 Artifact가 惹起될 憂慮가 크며, 또한 組織切片의 性格上 平面的인 觀察은 細胞의 三次元的 性狀을 把握하기가 困難함을 Stanley<sup>11)</sup> 등은 指摘하였다

造象牙細胞는 齒細管을 통하여 溫度的, 機械的, 化學的 및 細菌들에 依한 外部로부터의 不斷한 刺戟을 받고 있다. 특히 化學的 刺戟으로의 齒科用 充填劑와 窩洞의 消毒 및 殺菌劑는 造象牙細胞의 機能的, 化學的 및 形態學的 變化를 招來한다. <sup>11),12),13),14),15)</sup>

窩洞消毒劑들은 殺菌效果뿐 아니라 齒髓組織에 爲害作用이 있으며 또한 이들 化合物의 作用量 및 作用時間에 따라 그 效果가 各기 다르다. 특히 Phenol 및 Phenol 系 化合物은 齒科臨床에서 많이 利用되고 있으나 分子量이 크기때문에 長時間 作用시키지 않으면 그 藥物의 效果가 적으며 또한 藥液의 浸透效果로 因하여 齒細管內의 造象牙突起와 齒髓組織의 損傷을 招來한다. <sup>16),17),18)</sup>

Perreault<sup>19)</sup> 등은 白鼠切齒의 窩洞에 Phenol을 貼布하여 造象牙細胞의 反應을 觀察한 바, 貼布時間이나 窩洞의 깊이에 따라 反應樣狀이 달랐음을 報告하였고, Phenol이 消毒 및 殺菌作用보다 細胞에 對한 毒作用이 더 크며 齒細管의 有機質과 結合하여 齒細管內의 造象牙突起를 凝固시켜 Phenol의 作用을 制限시킨다는 것이 從來의 知見이었으나 Seltzer<sup>14)</sup>는 放射線同位元素로 追跡한 結果 Phenol의 齒細管內로의 透過性이 더욱 增加된

다는 것을 報告하였다.

이러한 實驗들은 모두 窩洞形成後에 藥劑를 作用시킨으로써 齒細管을 통한 藥物의 間接的인 作用을 觀察한 結果였고 또한 固定 또는 脫灰切片에서의 觀察成績들이 다.

著者は 이러한 齒科用 藥劑의 造象牙細胞에 對한 生物學的의 反應을 檢索코져 鎮痛 및 殺菌의 目的으로 齒科 臨床에서 널리 利用되고 있는 Phenol系 化合物의 基本成分인 Phenol에 對한 造象牙細胞의 形態學的 變化를 生理食鹽水에서의 觀察과 併行하여 位相差顯微鏡을 利用하여 經時的으로 觀察한 바 知見을 얻었기에 이를 報告하는 바 이다.

## II. 實驗材料 및 方法

### 1. 實驗材料

本 研究에 使用된 材料는 體重 250~280gm 內外의 Sprague-Dawley 系 成熟雄性白鼠로 下顎切齒로부터 Scratching Method에 依하여 採取된 未固定 造象牙細胞를 實驗對象으로 하였다.

또한 實驗에 使用된 藥劑는 生理食鹽水(0.9%, K. P.) 와 2%, 1%, 0.5%, 0.25% 및 0.125%의 Phenol 水溶液을 製作하여 使用하였다.

### 2. 實驗方法

i) 資料의 採取方法: 白鼠를 Ethyl Ether로 麻醉시키고 下顎骨을 切除한 後 下顎切齒를 拔去하여 銳利한 “面刀칼”로 齒牙長軸에 따라 縱斷하여 齒髓를 除去하였다. 그런다음 齒根端 1/3部位의 唇側象牙質壁을 銳利한 Sp-

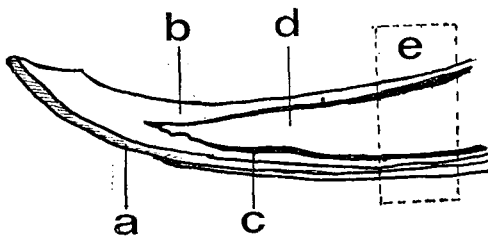


Fig. 1 Schematic illustration of the site of odontoblast collection.

- a.: Enamel
- b.: Dentine
- c.: Odontoblastic Layer
- d.: Pulp
- e.: Collection Area

oon Excavator로 Scratch하여 造象牙細胞를 採取하였으며 (Fig. 1), Slide glass上에 먼저 生理食鹽水를 滴下시킨 後 採取한 細胞塊를 浮遊시키고 이들 造象牙細胞塊를 “Pin” 으로 分離시킨 後 Cover glass를 덮어 檢鏡하였다.

ii) 觀察方法: 生理食鹽水와 Phenol液中에서의 變化를 觀察하기 爲하여 灌流用의 Slide glass를 考案하여 (Fig. 2), 먼저 生理食鹽水中에서 造象牙細胞의 經時的 變化를 10分, 30分, 60分의 間隔으로 觀察하였고 Phenol液中에서의 觀察은 生理食鹽水에서의 境遇와 마찬가지로 먼저 資料室에 生理食鹽水를 滴下시킨 後 造象牙細胞를 浮遊시키고 Cover glass를 놓고 Phenol液을 作用시키기 前에 新鮮한 狀態의 造象牙細胞의 形態를 位相差顯微鏡으로 把握한 다음 即時 Phenol液을 貯溜室에 넣어 資料室側으로부터 Filter paper로 生理食鹽水를 吸引하면서 資料室의 溶液을 Phenol로 置換하여 Phenol 液中에서의 造象牙細胞의 形態學的 變化를 10分, 30分, 60分의 間隔으로 觀察하였고 位相差顯微鏡的 觀察은 屍殺後 10分 以內에 施行하였다.

또한 實驗은 室溫에서 施行하였으며 使用된 顯微鏡은 Nikon 位相差顯微鏡(對物 Lens: DLL×40, 總倍率 400倍, Filter: Green Filter)이며 Kodak黑白 Film(ASA 50)을 使用하였다.

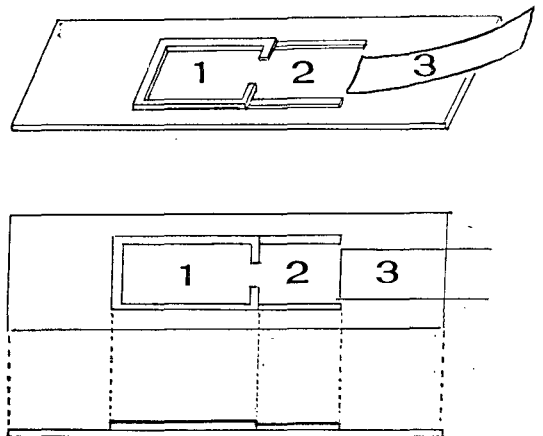


Fig. 2 Schematic Drawing of the irrigating slide chamber

- 1. Chamber for phenol solution
- 2. Chamber for the odontoblast in saline solution
- 3. Filter Paper

### III. 實驗成績

#### 1. 生理食鹽水에서의 觀察

i) 浮遊直後の 所見 : 造象牙細胞의 形態는 多樣하나 大概 丹柱狀, 紡錘狀, 棍棒狀의 3가지 形態를 보이며 이 中 棍棒狀이 가장 많았다.

核은 大部分 基部에 位置하고 橢圓形, 卵圓形 또는 圓形을 이루고 있다. 細胞質에서는 Phase-dark한 顆粒과 Phase-bright zone內에 空泡狀의 構造物을 보이며 Phase-dark한 顆粒은 크고 dark contrast가 강한 것과 작고 dark contrast가 弱한 2種의 顆粒으로 構成된다. 그러나 Mitochondria, Endoplasmic reticulum, Golgi 體, Ribosome 등의 識別은 下可能하다.

核膜, 核小體, 染色質 顆粒 등은 比較的 明瞭하여 核膜은 Phase-dark rim을 이루고 核小體는 Phase-dark한 球狀으로 1個乃至 3個 存在하고 核의 周邊部에 位置한다.

染色質 顆粒은 dark contrast의 小顆粒狀으로 核全體에 散在되어 있으나 中央部에서 더욱 顯著하였다.

ii) 經時的 觀察 : 造象牙細胞를 生理食鹽水에 浮遊시킨 後 10分, 30分, 60分의 間隔으로 形態學的 變化를 觀察한 바 核膜은 作用 直後부터 肥厚한 thick-rim을 이루고 核의 輪廓이 明瞭하여진다. 核小體와 染色質 顆粒들도 dark contrast가 增加되며 이러한 所見은 時間이 經過함에 따라 더욱 顯著하여진다.

細胞質內의 Phase-dark한 顆粒들은 커지며 dark contrast가 增加되고 凝集現象을 보인다.

核上部 外側에 작은 Blister가 出現하며 時間의 經過와 함께 細胞膜을 外側으로 膨隆시키고 終末에는 細胞外로 遊離된다. 作用後 60分에는 多數의 Blister들이 細胞周圍에 包圍되어 있음이 觀察된다.

또한 核上部의 Phase-bright zone의 變化는 顯著하지 않으나 細胞가 作用初보다 腫脹되고 細胞突起部는 가늘어진다.

#### 2. Phenol 水溶液에서의 觀察

i) 0.125% Phenol 水溶液 : 作用 直後에는 生理食鹽水에서의 所見과 大差없으나 10分 經過後부터 變化가 急速히 일어나는 傾向을 보인다. 即 細胞는 腫脹되고 細胞膜은 Phase-dark한 thick-rim을 이루고 細胞質 顆粒들도 dark contrast가 增加되고 明瞭하다. 核도 腫脹되고 核膜은 平滑하나 dark rim이 얇고 核小體와 染色質 顆粒은 dark contrast가 增加된다. 30分 經過後에도 變化는 持續되고 細胞는 더욱 腫脹되며 核上部의 Phase

bright zone이 擴散되고 Phase-dark한 顆粒들은 細胞膜 周邊으로 密集된다. 核은 收縮되고 核小體와 染色質 顆粒들은 凝集되어 dark contrast의 塊狀으로 一見 地圖狀을 이루며 60分 經過後에 細胞膜은 破壞되고 核은 崩壞된다.

ii) 0.25% Phenol 水溶液 : 作用 直後부터 細胞는 腫脹되고 細胞質內 顆粒들은 dark contrast가 增加되고 凝集像을 보인다. 核은 收縮되어 核濃縮 (Pyknosis)의 像을 보이며 核膜은 明瞭한 dark rim을 이룬다. 그러나 時間의 經過와 함께 核膜은 얇아지고 核은 膨脹되며 核小體와 染色質 顆粒의 dark contrast는 減退되고 擴散되며 溶解像을 보인다.

細胞質內에서 Phenol作用 直後부터 Blister들이 出現하여 漸次 擴大되어 細胞外側으로 移動되고 終末에는 細胞外로 分離되고 細胞膜은 腫脹이 甚하여 얇아지고 部分的으로 破裂되어 粗雜하여진다.

iii) 0.5% Phenol 水溶液 : 0.25% Phenol 水溶液에서와 類似하여 作用 直後부터 細胞가 腫脹되고 細胞의 構造物들의 移動을 보이며 核은 中央으로 移動된다. 核은 收縮과 同時에 核膜이 肥厚하여지고 dark contrast가 增加된다.

細胞質에서 Phase-bright zone이 擴大되고 多數의 Blister가 形成되며 時間의 經過와 함께 이러한 變化들은 더욱 顯著해진다.

그러나 核은 作用初에 收縮像을 보였으나 時間의 經過와 함께 漸次 腫脹되어 核膜이 얇아지고 核小體의 染色質 顆粒의 dark contrast도 減退되고 核崩壞(Karyorrhexis)의 像을 보인다.

iv) 1% Phenol 水溶液 : 作用即時 細胞와 核은 收縮되어 時間의 經過와 함께 더욱 甚化되며 細胞質內의 顆粒들도 dark contrast가 增加되고 擴大되며 凝集像을 보이며 中央部로 移動되어 核上部의 Phase-bright zone이 斑點狀을 이룬다.

核은 甚히 收縮되고 核小體와 染色質 顆粒은 dark contrast가 增加되고 初期에는 明瞭하였으나 後에는 凝集像을 보인다.

그러나 生理食鹽水와 0.5% 以下の Phenol水溶液에서 觀察되던 Blister의 形成은 全然 나타나지 않았다.

v) 2% Phenol 水溶液 : 1% Phenol水溶液에서와 같이 作用 直後 細胞는 收縮되고 細胞膜은 肥厚한 dark rim을 이루고 細胞質內 顆粒도 作用 直後 急激히 커지고 dark contrast가 增加되며 時間의 經過와 함께 凝集像을 보인다. 核上部의 Phase-bright zone은 作用 直後에는 明確하였으나 細胞의 收縮과 함께 漸次 狹小하여진다. Blister의 形成은 全然 觀察되지 않는다.

細胞의 外形은 核部와 核上部의 境界에서 細胞의 收縮으로 잘룩하여지고 細胞突起部는 가늘고 構造物은 없다.

核은 作用初보다 더욱 收縮되고 核膜은 dark thick-rim을 이루고 核小體와 染色質顆粒은 dark contrast가 增加되고 時間經過와 함께 凝集像을 보인다.

#### IV. 總括 및 考按

造象牙細胞는 象牙質形成에 關與하는 高度로 分化된 細胞로 基質과 Collagen의 分泌가 主機能이나 象牙質形成이 進行될 때 顆粒과 小滴(droplets)들이 細胞와 前象牙質사이에서 蓄積되고 Golgi體도 커지며 前象牙質側으로 擴散된다. 象牙質의 有機質成分은 造象牙細胞의 末端部의 細胞間隔에서 出現된다.

Stewart<sup>20</sup>는 造象牙細胞의 細胞質과 Tome氏 突起에 많은 種類의 酵素가 存在함을 證明하였고 特히 Alkaline-Phosphatase activity가 높음을 證明하였다.

Searls<sup>21</sup>와 Nylén<sup>22</sup>은 白鼠의 造象牙細胞의 微細構造를 電子顯微鏡의 으로 觀察한바 一般 細胞에서와 同一한 細胞의 構造物이 存在함을 確認하였다. Palade<sup>23</sup>는 RNA의 小顆粒이 附着된 Endoplasmic Reticulum(以下 ER로 稱함)이 細胞의 長軸에 平行하게 走行하며 核上部에 主로 位置하고, 球狀의 Golgi體도 核上部에 位置하며 이들 Golgi體도 顆粒을 多數 包含하는 空胞로 構成되어 있으며 또한 RNA로 推定되는 微細한 顆粒이 細胞質 全般에 散在되어 있음을 觀察하였고 Leeson<sup>24</sup>은 이들 微細顆粒을 Polyribosome으로 命名하였다.

Searls<sup>21</sup>는 電子顯微鏡의 으로 造象牙細胞를 記述하는데 있어서 便宜上 基底部(Basal zone), 核部(Nuclear zone), 核上部(Supranuclear zone), 細胞突起部(Apical zone)로 分類하고 이들 各部의 構造의 特徵을 觀察한 바 大部分의 構造物이 核上部에 存在하고 있음을 觀察하였다. 即 核上部의 中央에는 多數의 空胞가 存在하고 周邊部에서는 ER, Mitochondria 및 electron-dense한 顆粒이 存在하며 細胞突起部에서는 Mitochondria가 가끔 있을 뿐이라고 하였다.

著者의 位相差顯微鏡 所見으로도 造象牙細胞를 4개의 zone으로 區分할 수 있으나 電子顯微鏡에서와 같이 Golgi體나 또는 ER의 區別은 困難하였다. 그러나 細胞質에서 보이는 크고 dark contrast가 강한 顆粒은 Mitochondria나 ER이며 dark contrast가 微弱한 小顆粒은 RNA顆粒으로 思料되며, Searls<sup>21</sup>의 報告와 같이 이들 構造物들은 核上部 細胞膜 周邊에 密集現象을 보인다. 또한 核上部 中央의 Bright contrast zone은 Golgi體가 位置한 部分과 一致하며 Golgi體의 空胞들로 因하

여 Bright contrast를 나타내는 것으로 생각된다.

Phenol液에서의 形態學的 變化를 觀察하기 爲하여 對照實驗으로 生理食鹽水에서의 經時的 變化를 觀察한 바 細胞의 構造物들이 經時的으로 多樣하게 變化되는 것을 보았다.

即 時間이 經過됨에 따라 細胞의 腫脹, 核의 濃縮像을 보이고 核小體와 染色質 顆粒의 dark contrast가 增加되고 擴大되며 凝集像을 보인다. 또 核上部 細胞質에서 Blister가 出現하며 時間의 經過와 함께 細胞外側으로 移動되고 終末에는 細胞外로 遊離되거나 細胞膜의 損傷은 보이지 않았다. 核上部의 bright contrast zone은 漸次 擴散되고 이로 因하여 細胞質顆粒은 周邊部로 偏在된다.

또한 이들 顆粒들은 時間經過와 함께 dark contrast가 增加되고 漸次 凝集像을 보인다.

이들 細胞質 顆粒들은 Mitochondria나 ER로 推定되는 바 Mitochondria는 細胞의 代謝機轉에 가장 敏感하게 反應하고 細胞의 損傷時에 腫脹되는 바 核의 濃縮은 細胞의 損傷이 相當히 進行되었음을 意味하는 것으로, 位相差顯微鏡에서 細胞質 顆粒의 dark contrast의 增加와 擴大는 Mitochondria의 變化라고 推定된다.

Palay<sup>25</sup>도 細胞質 顆粒의 變化는 Mitochondria의 變化 乃至는 特定한 分泌作用과 關係있는 것이라 하였다. 또한 核上部의 bright contrast zone의 擴散은 Golgi體의 空胞의 增加에 起因하는 것으로 思料된다.

正常 脫灰染色標本에서 造象牙細胞의 空胞의 本態에 對하여는 論難이 많으며 Gardner<sup>26</sup>는 이들 空胞를 Artifact라 하였으나 Stewart<sup>20</sup>는 未固定 造象牙細胞의 塗抹 Formalin 固定標本에서 細胞를 觀察하고 이들 空胞가 細胞의 構造物이거나 또는 Golgi體의 分泌作用에 依하여 惹起되는 生活現象의 一部라 하였다.

Meltzer<sup>27</sup>는 細胞가 水分을 吸收하는 現象을 Potocytosis라 하였으나, 後에 Lewis<sup>28</sup>는 組織培養에서 細胞의 僞足에 依하여 液體를 攝取하는 것을 Pinocytosis라 하였다. Zollinger<sup>29</sup>는 여러 組織細胞의 位相差顯微鏡을 利用한 研究에서 大部分의 細胞들에서 Blister가 形成되는 것을 觀察하였다. 이들 Blister는 細胞가 遊離狀態로 直接 浮遊液과 細胞面이 接하여 있을 때만 生成될 뿐 細胞가 集團을 이루고 連接되어 있을 때는 Blister가 出現하지 않는다고 하였다. 또한 이들 細胞들은 僞足이 없는 細胞로 이들 細胞가 水分을 吸收하는 現象을 Pinocytosis라 하기는 不適當하며 오히려 Potocytosis란 用語를 使用함이 妥當하다 하였다.

Blister의 形成과 增大는 細胞의 生活力이 持續될 때 일어나며 細胞의 死滅과 同時에 Blister의 形成은 中止된다(Fig 3).

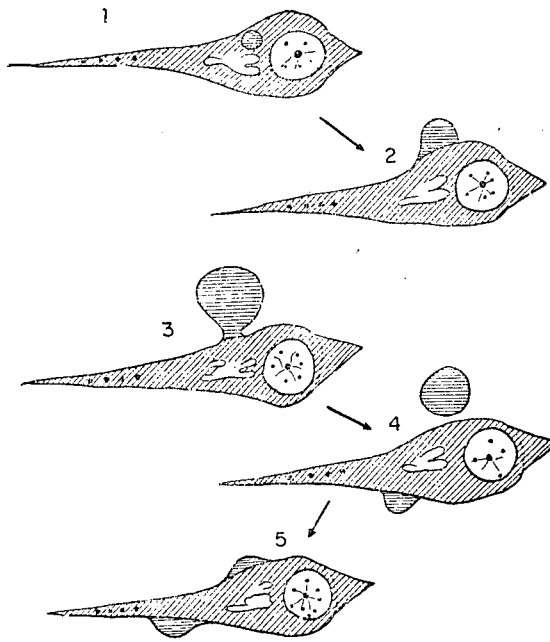


Fig. 3 Schematic Drawing Demonstrating the Formation and Detachment of a Blister.

Blister는 生理食鹽水, 高張液, 蒸溜水, 血清等 浮遊液의 種類에 따라 形成의 差를 보일 뿐 浮遊液의 化學的 組成에는 無關하며 滲透壓에 依한다. 反對로 高濃度의 食鹽水에서는 Blister가 消失된다.

그러나 細胞膜은 化合物의 種類에 따라 苛性소다(pH 10.2), 암모니아 등은 細胞膜을 溶解시키나 알콜, 아세톤, 포르말린, 鹽化加里 등은 細胞膜을 收縮시키고 凝固시킴으로써 Potocytosis를 抑制시킨다. 本實驗에 使用

된 2%, 1%의 Phenol液에서 Blister의 形成이 없었던 것은 Phenol의 細胞膜에 對한 收縮作用에 起因된 것으로 思料된다. 그러나 Blister가 細胞外로 分離될때 細胞膜에 損傷이 없는 것은 現今도 解明되지 않고 있다.

筒井<sup>30)</sup> 등은 浮遊液으로 Simms×7 溶液을 使用하여 未固定 造象牙細胞의 構造를 位相差顯微鏡으로 觀察한 바 核小體와 染色質 顆粒들이 Phase-dark한 globular structure를 이루고 核內에 彌漫性으로 散在하나 中央部보다도 核緣部에 密集되는 傾向을 보인다고 하였다. 島原<sup>31)</sup>도 同一方法으로 造象牙細胞의 變化를 觀察한 바 實驗初期에는 核內構造物의 dark contrast가 微弱하고 不明瞭하나, 長時間의 經過에 依하여 染色質顆粒들의 dark contrast가 增加되고 明瞭하여졌고 細胞質內에서 空胞가 出現된다고 하였다. 이러한 所見은 著者의 生理食鹽水에 浮遊시킨 例에서와 大略一致하나 島原<sup>31)</sup>의 Simms×7 液에서보다 著者의 生理食鹽水에서의 變化時間이 若干 짧았다.

金<sup>31)</sup>은 組織培養에 使用되는 Hank氏 液과 Formocresol 液에서의 未固定 造象牙細胞를 形態學的으로 觀察한 바 Hank氏 液中에서 核膜이 漸次 肥厚하여지고 時間經過와 함께 細胞質顆粒의 dark contrast가 增加되고 凝集現象을 보였다 하였고 이러한 所見은 島原<sup>31)</sup>의 Simms×7 液에서의 所見이나 本實驗의 生理食鹽水에서의 觀察 所見과 大略一致되고 있다. Formocresol作用群에서는 濃度의 差異없이 모두 類似한 所見을 보여 核의 崩壞像과 細胞質顆粒의 膨化 및 dark contrast가 增加됨을 報告하였다. 그러나 著者의 Phenol溶液中에서의 變化는 濃度 및 經時的으로 甚한 差異를 보였다(Table 1).

Table 1. Morphological Changes of the Odontoblast in Saline and Phenol Solution.

Odontoblast structure	Saline		Phenol Solution									
			0.125%		0.25%		0.5%		1%		2%	
	early	later	early	later	early	later	early	later	early	later	early	later
Nucleus	—	pk	sw	kl	sw	—	sw	mp	shr	—	shr	mp
Chromatin	—	hyp	—	agg	—	obs	—	obs	hyp	agg	hyp	agg
Nuclear membrane	—	shr	disc	disc	—	obs	pk	mp	pk	mp	pk	mp
Nucleolus	—	—	—	agg	—	obs	—	obs	—	obs	—	—
Cellular membrane	—	sw	—	sw	—	obs	—	obs	shr	mp	shr	—
Bright Contrast zone	—	app	—	app	—	—	—	app	app	mp	app	—
Granules	—	agg	—	agg	—	agg	—	agg	agg	mp	agg	mp
Blisters	app	enl	—	app	—	app	—	app	—	—	—	—
Protoplasmic process	—	shr	—	obs	—	obs	—	obs	shr	—	shr	—

Abbreviations: agg.: Aggregation dis.: Discontinuity hyp.: Hyperchromasia obs.: Obscurity sw.: Swelling mp.: more progressive app.: Appearing enl.: Enlargement pk.: Pyknosis shr.: Shrinkage —: not significant change

即 0.125%와 0.25%의 Phenol溶液에서는 作用直後の變化는 微弱하나 漸次細胞의 腫脹과 顆粒의 dark contrast의 增加와 凝集現象을 보이고 多數의 Blister가 細胞內外에 出現된다. 또한 核의 構造物들은 凝集되나 核膜은 溶解像을 보이고 終末에는 完全히 崩壞되었다. 이러한 所見과는 對照的으로 1%와 2%의 Phenol溶液에서는 作用即時 細胞全體가 收縮되고 細胞質과 核의 모든 構造物들도 凝縮되며 Blister形成은 全혀 보이지 않았다. 또한 0.5% Phenol溶液의 作用直後는 一時的으로 細胞가 收縮되나, 곧 腫脹되어 0.25%와 0.125% 溶液에서와 같이 細胞의 崩壞像과 核의 溶解像을 보였다. 이와같은 所見은 1%, 2%의 Phenol溶液에서는 Phenol의 蛋白質 凝固가 細胞全體를 收縮시켰고 稀濃度の Phenol溶液에서의 細胞反應은 微弱한 Phenol이 細胞膜을 變化시켜 滲透壓을 增加시킴으로써 細胞의 腫脹 및 崩壞가 惹起되는 것으로 思料된다. 吉田<sup>22)</sup>은 Phenol이 組織學的으로 爲害作用이 강한 物質이나 造象牙細胞는 Phenol濃度の 高低에 따라 核과 細胞質의 變化가 다른 것은 勿論 어느 濃度の 範圍內에서는 可逆的인 變化를 보인다고 하였다. 眞泉<sup>23)</sup>은 1%의 Phenol液은 殺菌的 效果가 있으나 0.2% Phenol液은 靜菌的 效果가 있다고 하였다.

이와같이 本 實驗에서 使用된 Phenol의 濃도가 臨床的으로 造象牙細胞에 安全한 濃度인가의 與否는 確認할 수 없으나 造象牙細胞가 Phenol의 濃도에 따라 反應態度가 달라지는 것은 臨床에서 象牙質에 貼布하는 藥物의 濃도와 實際로 造象牙細胞에 到達되는 藥物의 濃度를 考慮하지 않으면 안된다는 것을 示唆하는 것이라 하겠다.

## V. 結 論

著者は 成熟雄性白鼠(體重 250—280gm)의 下顎切齒를 摘出하여 生理食鹽水와 Phenol溶液을 點滴하여 未固定 造象牙細胞의 形態學的 變化를 位相差顯微鏡을 使用하여 觀察한 바 다음과 같은 結論을 얻었다.

1. 對照群에서 時間이 經過함에 따라 細胞는 腫脹되고 細胞突起部는 늘어지며 核膜은 肥厚하여지고 dark contrast가 增加되고 核小體와 染色質도 明瞭하여진다.

核上部의 細胞質內에서 작은 Blister가 出現하여 漸次 增大되면서 細胞質膜을 膨隆시키면서 外側으로 移動되고 終末에는 Blister가 細胞에서 遊離되고 細胞質內의 Phase-dark granule들은 時間이 經過함에 따라 增大되었다.

2. 0.125%와 0.25% Phenol溶液의 所見은 類似하며 作用即時 細胞와 核은 收縮되고 核膜, 細胞膜과 細胞質

顆粒이 明瞭하여지나 時間이 經過함에 따라 細胞質內의 Phase-dark granule과 核小體 및 染色質의 dark contrast는 增加되고 凝集像을 보이고 Blister가 多數 出現하며 細胞는 腫脹되고 終末에는 細胞膜이 崩壞되었다.

3. 0.5% Phenol溶液에서는 作用即時 核은 收縮되나 時間이 經過함에 따라 核膜은 dark contrast가 減少하면서 溶解像을 보이고 核小體와 染色體들도 不明瞭하여지고 細胞質內에서의 dark contrast granule은 凝集, 增大되며 同時에 大小의 Blister가 多數 形成되고 終末에는 細胞膜의 輪廓이 消失되었다.

4. 1% Phenol溶液에서는 細胞 및 核의 收縮像을 보이고, 核膜의 肥厚, 染色質의 凝集像을 보이나 가끔 核의 崩壞像도 보이고 細胞質內에서의 Blister形成은 없으며 Phase-dark granule들은 凝集되어 크기가 增大되었다.

5. 2% Phenol溶液에서는 細胞는 收縮되면서 核膜도 收縮되고 核濃縮像을 보이며 核小體와 染色質도 dark contrast가 增加하였다. 細胞質內의 Phase-dark granule 들은 그 數가 減少하면서 凝集現象을 보이고 bright contrast zone들이 出現되고 Blister의 形成은 없었다.

(끝으로 本 論文이 이루어지기까지 始終 指導校閱하여 주신 張完植指導教授님과 林昌潤副教授님께 深甚한 謝意를 表하며 敎室員諸位께 感謝하는 바이다.)

## 參 考 文 獻

1. Stanley, H. R.: The Cells of the Dental Pulp. Oral Surg., Oral Med. and Oral Path. 15: 849., 1962.
2. Ivanyi, D.: Nucleoli of Human Odontoblasts. Arch. Oral Biol., 17: 931, 1972.
3. Takuma, S., and Nagai, N.: Ultrastructure of Rat Odontoblasts in Various Stages of their Development and Maturation, Arch. Oral Biol., 16: 993, 1971.
4. Jessen, H.: The Ultrastructure of Odontoblasts in Perfusion fixed demineralized Incisors of Adult Rats, Acta Odont. Scand., 25: 491, 1967.
5. Garant, P. R., Szabo, G., and Nalbandian, J.: The Fine Structure of the Mouse Odontoblast, Arch. Oral Biol., 13: 857, 1968.
6. Kramer, I. R. H.: The Isolation and Examination of Odontoblasts in the Fresh Unfixed State, Proc. Roy. Soc. Med., 49: 545, 1956.

7. 筒井正弘, 内海順夫, 島原健夫, 三村敏郎, 井上 弘, 犬童義彦: 象牙芽細胞の位相差顕微鏡的研究—とくに固定切片標本による所見について, 齒科醫學 33 : 556, 1972.
8. 島原健夫: 象牙芽細胞の干渉位相差顕微鏡的研究—とくに未固定資料による鹽類溶液中での經時的變化, 齒科醫學 33 : 687, 1970.
9. Zernike, F.: How I Discovered Phase Contrast, Science. 121 : 345, 1955.
10. Richard, O.W.: Phase Microscopy, Science, 121 : 345, 1955.
11. Swerdlow, H., and Stanley, H.R.: Reaction of the Human Dental Pulp to Cavity Preparation. K I. Effect of Water Spray at 20,000r.p.m. J.A.D.A., 56 : 317, 1958.
12. Bernier, J.L., and Knapp, M.J.: New Pulpal Response to High-Speed Dental Instruments. Oral Surg., 11 : 167, 1958.
13. Mitchell, D.F., and Jensen, J.R.: Preliminary Report on the Reaction of the Dental Pulp to Cavity Preparation using an Ultrasonic Device., J.A.D.A., 55 : 57, 1957.
14. Seltzer, S., and Bender, I.B.: The Dental Pulp, J.B. Lippincott Co., 86, 2nd ed. 1975.
15. Kronfeld, R.: The Process of Repair Following Tooth Fracture. J. Dent. Res., 11 : 247, 1931.
16. Gurley, W.D., and Van Huysen, G.: Histologic Response of Teeth of Dogs to Operative Procedures, J. Dent. Res., 19 : 179, 1940.
17. Shroff, F.R.: Effects of Filling Materials on the Dental Pulp. N.E. Dent. J., 42 : 99, 145, 1946.
18. Burkman, N.W., Schmidt, H.S., and Crowley, M.C.: A Preliminary Report of an Investigation to Study the Effects of Certain Drugs for Sterilizing Carious Dentine, Oral Surg., 7 : 647, 1954.
19. Perreault, J.G., Massler, M., and Schour, I.: Reaction of Odontoblasts to Medicaments Placed in Cavity Preparations in Rat Incisors. J.A.D.A., 52 : 533, 1956.
20. Stewart, J.M.: The Immediate Response of Odontoblasts to Injury. Odont. Tidsker., 73 : 417, 1965.
21. Searls, J.C.: Light and Electron Microscope Evaluation of Changes Induced in Odontoblasts of the Rat Incisor by the High-Speed Drill, J. Dent Res. 46 : 1344, 1967.
22. Nylen, M.W. and Scott, D.B.: Dentinogenesis Public Health Service Bulletin No. 613, U.S. Dept. Health, Education, and Welfare, 1958.
23. Palade, G., and Porter, K.: Studies on the Endoplasmic Reticulum. I. Its Identification in Cells in Situ, J. Exper. Med., 100 : 641, 1954.
24. Leeson, C.R., and Leeson, T.S.: An Unusual Arrangement of Ribosomes in Mesenchymal Cells J. Cell Biol., 24 : 324, 1965.
25. Palay, S.L., Ed.: Frontiers in Cytology. (Yale Univ. Press, New Haven, 1958.)
26. Gardner, A.F.: Tissue Changes in the Pulp During Experimental Lathyrism, Oral Surg., Oral Med., and Oral Path., 12 : 1102, 1959.
27. Meltzer, S.J.: Edema, Am. Med., 8 : 191, 1904
28. Lewis, W.H.: Pinocytosis by Malignant Cells. Am. J. Cancer, 29 : 666, 1946.
29. Zollinger, H.U.: Cytologic Studies with the Phase Microscope, I. The Formation of "Blisters" on Cells in Suspension (Potocytosis), with Observation on the Nature of the Cellular Membrane, Am. J. Path. 24 : 545, 1948.
30. 筒井正弘, 西村典三, 竹内一郎, 平配嘉男, 内海順夫: 象牙芽細胞の位相差顕微鏡的研究(豫報) —齒基楚誌, 4卷3號 33, 1963.
31. 金憲一: 未固定象牙芽細胞の細胞生物學的研究, 最新醫學 8卷 12號 1540, 1975.
32. 吉田國厚: 象牙芽細胞の細胞生物學的研究—とくに未固定資料による Phenol 溶液中での形態學的變化について—齒科醫學, 35 : 99, 1972.
33. 眞泉平治: フェノール(石炭酸)の功罪について : 日本齒科評論 326 : 1462, 1969.

# A PHASE CONTRAST MICROSCOPIC STUDY OF THE EFFECT OF PHENOL ON UNFIXED ODONTOBLAST

Kyoung Taik Hong, D.D.S., M.S.D.

*Department of Prosthodontics, Graduate School, S.N.U.*

*(Directed by Prof. Wan Shik Chang, D.D.S., Ph.D.)*

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

In order to study the morphologic changes of the unfixed odontoblasts suspended in phenol solution of several different concentrations, the author carried out the extraction of lower incisor of S-D strain rats to collect the odontoblasts, and the cells obtained were suspended immediately in saline solution. After observing the odontoblasts in fresh state, the saline solution was substituted with 0.125%, 0.25% 0.5%, 1% and 2% diluted phenol solutions. The morphologic changes were examined with phase contrast microscope at intervals of 10, 30, and 60 minutes. The results were as follows:

1. In saline solution the odontoblast showed cytoplasmic swelling, slender cytoplasmic process, thick rim nuclear membrane with increased dark contrast, and prominent nucleoli and chromatin granules with lapse of time intervals. In accordance with time intervals, blisters appeared in the supranuclear zone and increased its size and moved outward of the cytoplasmic membrane resulting detachment from the cell membrane. The phase dark cytoplasmic granules were increased in its dark contrast and in its size.
2. In 0.125% and 0.25% phenol solution, the odontoblasts and its nucleus shrunk immediately and its contrast of cellular components was increased. With the lapse of time, the phase-dark granules in cytoplasm were aggregated, and several blisters were formed in and out of the cells. The outline of cytoplasmic membrane was also obscured.
3. In 0.5% phenol solution, the nucleus shrunk at once, but soon after it revealed karyolysis accompanying dark contrast of nuclear components such as nuclear membrane, nucleoli, and chromatin granules. On the contrary, the cytoplasmic granules showed aggregation and increased dark contrast, small and large blisters were formed in and out of the odontoblasts and the outline of cytoplasmic membrane became obscured.
4. In 1% phenol solution, it showed shrinkage of odontoblasts and its nuclei with thick rim nuclear membrane, aggregation of chromatin granules and occasional karyorrhexis. The dark contrast of cytoplasmic granules was increased and aggregated each other. But the blister formation could not be found.
5. In 2% phenol solution, it showed the shrinkage of odontoblasts and pyknotic nuclei with increased dark contrast of nucleoli and chromatin granules. The number of cytoplasmic granules was decreased by aggregation. But the blister formation could not be found as in 1% phenol solution.



## EXPLANATION OF THE PHOTOMICROGRAPHS

- Fig. 1 Odontoblast in saline solution 10 minutes after suspension. The nuclear membrane is wrinkled and a blister is forming near the nucleus. Marked cytoplasmic swelling on supranuclear zone. (x400)
- Fig. 2 Odontoblast in saline solution one hour after suspension. Note the cytoplasmic swelling and blister formation on supranuclear zone. The chromatin granules are hardly distinguished from background structures of nucleus. (x400)
- Fig. 3 Odontoblast in 2% phenol solution 10 minutes after suspension. Note the shrunken cell body and aggregation of cytoplasmic granules. The nuclear chromatin granules and nucleoli are prominent with dark contrast. (x400)
- Fig. 4 One hour after the upper picture. The changes are more progressive with pyknosis of nucleus. (x400)
- Fig. 5 Photomicrograph of 10 minutes after 1% phenol suspension. Note the shrunken cytoplasm and pronounced and diffuse cytoplasmic granules. (x400)
- Fig. 6 One hour after 1% phenol solution. Note the slight cell swelling with diffuse dark contrast cytoplasmic granules. (x400)
- Fig. 7 Photomicrograph of 10 minutes after 0.5% phenol suspension. Note the swollen cell outline with pyknotic nucleus. The cytoplasmic granules reveal increased phase dark contrast and aggregation. (x400)
- Fig. 8 One hour after the upper picture. Note the discontinuous cytoplasmic membrane, aggregated cytoplasmic granules and many vacuoles. The nucleus is swollen with thin nuclear membrane and increased bright contrast in the center of the nucleus. (x400)
- Fig. 9 Odontoblast after 10 minutes after 0.25% phenol suspension. Note the swollen nucleus with aggregation of nucleoli and chromatin granules and a blister attached on the cell membrane. (x400)
- Fig. 10 One hour after the upper picture. The nucleus is migrated centrally and shows karyolysis. The cytoplasm is vacuolated by several blisters. (x400)
- Fig. 11 Photomicrograph of odontoblasts in 0.125% phenol solution as soon as suspension. Note the thick rimmed nuclear membrane with discontinuous cytoplasmic membrane. The cytoplasmic granules show aggregation and many blister formations in and out of the odontoblasts. The two cells are quite similar. (x400)
- Fig. 12 One hour progressed picture of the upper cells. The cytoplasmic membrane is ruptured and the cytoplasmic granules are dispersed. Several blisters surround the nucleus. (x400)

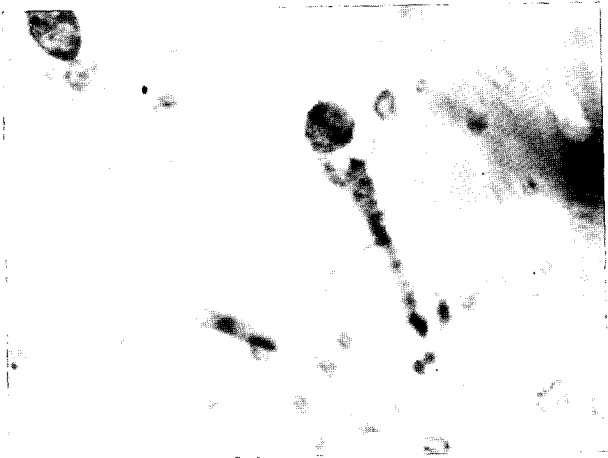


Fig. 1

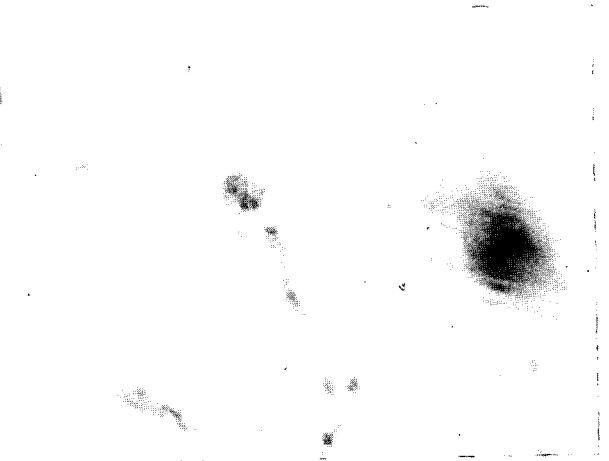


Fig. 2



Fig. 3



Fig. 4

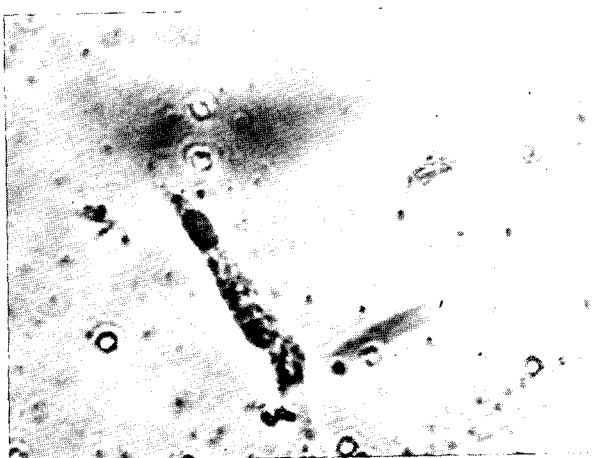


Fig. 5



Fig. 6

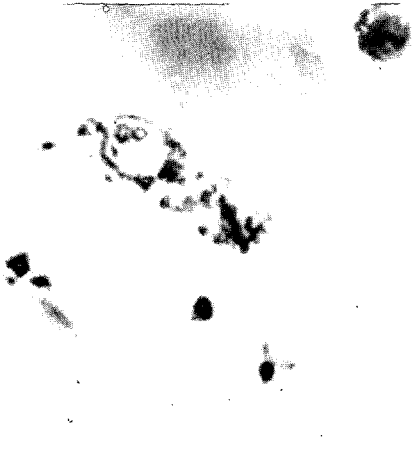


Fig. 7

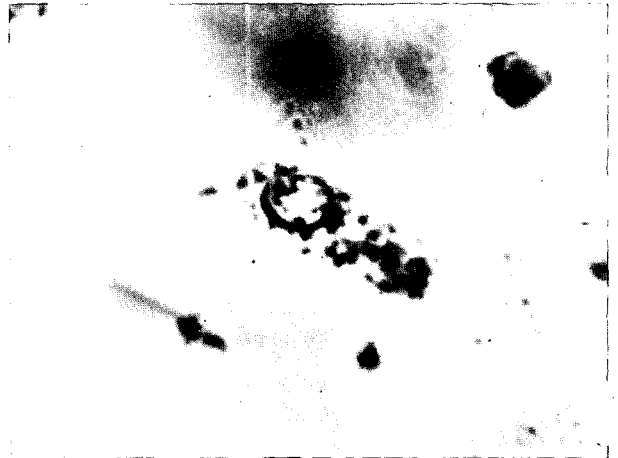


Fig. 8

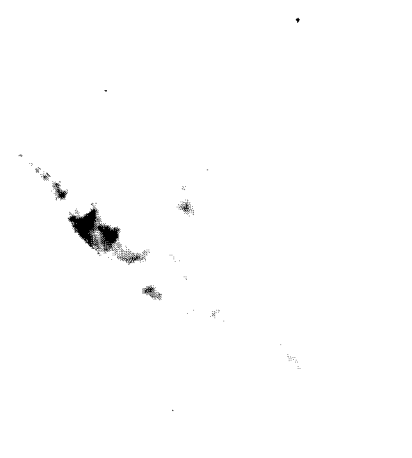


Fig. 9

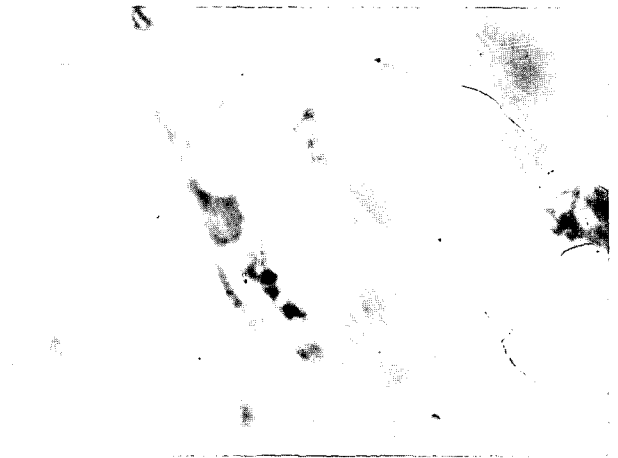


Fig. 10

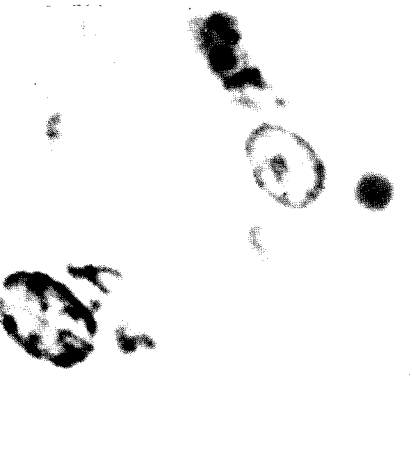


Fig. 11

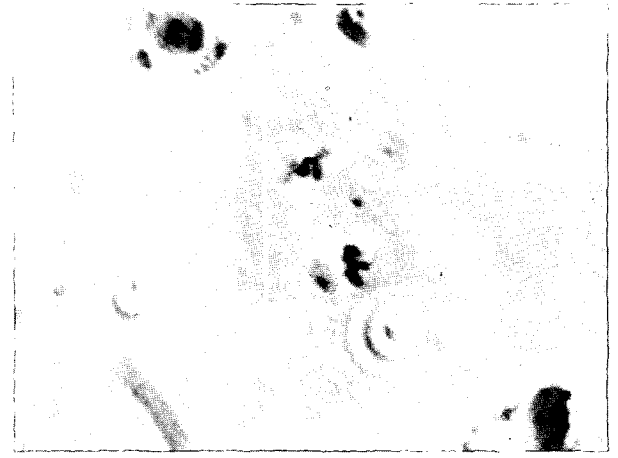


Fig. 12