

# 치수조직의 석회화구조물 형성에 관한 실험적 연구

서울대학교 치과대학 보존학교실

이 인 숙 · 이 정 식

## — 목 차 —

- I. 서 언
- II. 실험재료 및 방법
- III. 실험성적
- IV. 총괄 및 고안
- V. 결 언
- 참고문헌
- 영문초록
- 사진부도

## I. 서 언

치수조직의 기본적 기능은 상아아세포에 의한 상아질형성에 있다. 그러나 치수조직에서는 이러한 상아질형성과는 별도로 연령이 증가함에 따라 여러 가지 석회화구조물이 나타나는 경우가 있다.

치수에 나타나는 석회화변성은 치수의 위축이나 만성치수염의 경우에 수반되어 나타나기도 하며, 치수의 혈관이나 신경의 주위조직에 초자변성이 일어난 경우 이 부위에 석회염이 침착되는 일이 많다.

일반적으로 치수조직에서는 다른 연조직에서와 같이 정상적인 상황하에서는 석회화가 일어나지 않는 것으로 되어 있으나, 실험적으로 치수조직 내에서 석회화구조물을 형성하게 함은, 경조직형성물에 대한 형성원인과 기전을 이해하는데 있어 생물학적으로 의의있는 연구대상이라 하겠다.

치수내에서 관찰되는 석회화구조물의 양상은 상아질과 같은 구조를 하고 있는 것도 있고, 단순히

여러가지 형태의 석회화물구조를 하기도 한다.

이들 구조물에 관한 검색에 있어 Seeling(1956)<sup>10</sup>, Johnson and Beverlander(1956)<sup>11</sup>, Seltzer and Bender(1956)<sup>12</sup>, Harpor and Mackay(1768)<sup>13</sup> 등은 사람의 치수조직에 나타나는 여러 석회화구조물에 대한 검토를 하였고, Okada(1970)<sup>14</sup>, Matena(1972)<sup>22</sup>, Luostarin and Ronning(1977)<sup>15</sup>, 남광현(1977)<sup>23</sup>, Tanaka(1981)<sup>16</sup>, Ishise(1983)<sup>7</sup> 및 이석우(1984)<sup>17</sup> 등은 설치류를 실험대상으로 하여 치수내 석회화구조물의 성기전 규명에 많은 업적을 연구보고 하였다.

특히, 치수조직의 순환장이나 혈액분포의 이상을 재현하기 위한 수단으로 치수조직을 피하조직에 이식하는 실험에서는 설치류의 절치를 대상으로 한 경우, 대부분 근단부의 치배조직을 포함하여 관찰한바, 이에 본인은 백서 절치의 치수조직을 적출한 후 근단부의 치배조직을 제거한 나머지 치수조직편을 피하조직에 동종이식 하여 그 조직변화과정에서 발현된 석회화구조물의 소견을 관찰한 바 있어 보고하는 바이다.

## II. 실험재료 및 방법

본 실험에 사용된 실험동물은 생후 3주에서 4주된, 체중 150kg~200kg의 sprague-Dawley계 백서 30마리를 대상으로 하였다.

치수의 적출에 있어서는 백서 6마리를 barbiturate마취하에 상하악 절치를 발거한 후, 즉시 실온에서 생리적 식염수에 침적시키고, 치수조직을 치

아에서 치과용 hand instrument 인 치줄로 박리시킨 후, 근단부의 치배조직을 제거한, 상부치수조직을 두부와 등부의 피하에 동종이식하여 이를 실험군(24마리)으로 하였고 대조군으로서는 상기 실험재료로 제공된 백서의 구강점막을 사방 2~3mm 크기로 절제하여 상기 실험군에서와 같은 방법으로 이식하였다.

이식후 7일, 14일, 21일 및 28일에 각각 6 마리씩 희생시킨 다음 이식편의 주위조직과 함께 숙주(hos)에서 적제하여 10%중성 formalin용액에 고정처리 한후, 5% EDTA용액에 1주일간 탈회하여 paraffin 포매후 10 $\mu$ m두께로 절편을 제작하고 조직소견을 관찰하기 위해 H-E염색과 alizarin redS, Von Kossa 및 alcian blue염색을 하여 이식치수의 변화과정 및 석회화구조물의 형성소견을 검경 하였다.

### III. 실험 성적

대조군의 일주경과 예에서는 이식점막 조직편 주변에 염증소견이 비교적 광범위하게 형성되고 있음을 관찰할 수가 있었다(사진 3 참조).

이식상피조직에서의 염색성은 다소 산호성 경향을 띠었고 숙주측의 결합조직에서는 출혈소와 충혈된 혈관을 관찰할 수 있었으며(H-E염색), alizarin redS와 von Kossa 및 alcian blue에 대한 반응은 음성으로 나타났다. 이주경과 예에서는 일주경과 예보다 염증성 세포의 출현이 다소 감소되어 나타났다(사진 6 참조).

이식상피조직에서는 마치 피부에서와 같은 각질층이 나타나고 있었으며, 상피의 기저 세포들은 다소 농축된 소견을 보였다. 상피하 결합 조직에서는 원형세포와 섬유모세포들이 드물게 관찰되었으나 신생혈관은 관찰할 수 없었다(H-E염색). alizarin redS와 Von Kossa 및 alcian blue에 대한 염색 반응은 음성을 나타냈다.

3주경과 예에서는 이식편주변에서 상피의 피막형성이 관찰되었고(사진 9 참조), 이식상피는 염색성이 다소 저하되어 나타났으며, 상피세포의 핵은 농축되거나 거의 소실된 경우도 관찰되었다. 상피하 결합조직에서는 원형세포가 다소 증가되어 나타났으며(H-E염색), alizarin redS와 Von Kossa 에 대한 염색반응은 음성이었고(사진 13 및 14 참조),

alcian blue에 대한 반응도 음성으로 나타났다.

4주경과 예에서는 이식상피주변에서 뚜렷한 상피성낭이 형성되었고, 이식편은 위축된 소견으로 관찰되었다(사진 12 참조). 상기 상피성낭과 이식편 사이에는 염증성 세포들이 다수 존재하고 있었으며, 상피하 결합조직에서도 위축되고 섬유화된 양상을 띠었다(H-E염색). alizarin redS와 von Kossa 및 alcian blue에 대한 소견은 모두 음성으로 관찰되었다.

실험군(이식된 치수조직)의 일주경과예에서는 대조군에서와 같이 이식치수조직주변에 많은 염증성 세포가 침윤되었고, 이식치수조직세포들은 거의 위축되어 나타났으며 이식주변 결합조직에 비해 염색성이 저하 되어 있었다. 이식된 치수주변조직에서도 대조군의 경우와 같이 충혈 및 출혈소가 관찰되는 경우가 간혹 있었으나 피사소견은 이식편의 소위상아아세포층에 해당되는 주변부에서 hematoxylin 에 농염되는 소견으로 관찰되었다. 그러나 세포들의 특징적인 소견은 감별하기 힘들었다. 농염된 소견 주변에는 eosin에 염색되는 간질성분과 같은 석회기질이 약하게 형성되어 있음을 관찰할 수 있었고 기질표면에는 세포성분이 다소 밀집된 양상을 보였다. 한편 alizarin redS 및 von Kossa에 대한 염색 소견은 일부 이식조직주변에 국한되어 점상으로 산재성의 국재성(localization)을 나타나는 정도의 음성내지는 미약한 반응을 보였다(사진 2 참조).

이식후 2주경과 예에서는 일주경과 예에서보다 염증세포가 현저히 감소되어 있었으며, 일주경과예에서 보였던 출혈소는 거의 소실되어 가고 있었다. 이식된 치수조직주변에는 섬유아세포가 다수 관찰되었고, 신생혈관은 산재성으로 나타나고 있었다. 이식조직주변에는 eosin에 염색되는 기질들이 다수 형성되어 있었으며, 일부는 이식편의 내부로 확대되어 가는 경향을 띠었다(사진 4 참조).

이식편주변조직에서는 비교적 광범위하게 alizarin redS에 대해 강하게 염색되는 소견이 울타리모양으로 관찰되었으나(사진 5 참조), von Kossa 염색에서는 미만성으로 나타났다.

이식후 3주경과예에서는 2주경과예에서보다 석회화기질이 광범위하게 형성되고 있었다. 염증성소견은 거의 소실되어 나타났으며, 이식조직주변에서는 섬유성 피막이 형성되고 있었다. alizarin redS에 대한 염색반응도 2주경과예에서 보다 그 염색범위가 확대되어 있었고 von Kossa의 염색의 경우

보다 흑염되어 나타났으며 alcian blue에 대한 반응도 다소 증염되어 나타났다.

이식후 4 주경과예에서는 3 주경과예에서보다 많은 양의 석회화 구조물이 형성되었고, 일부 기질은 hematoxylin에 농염되는 소견을 보였으며, 이들 기질내에는 기질형성세포들이 불규칙하게 매입되고 있었으나 골에서와 같이 총상관 구조물의 형성은 관찰되지 않았다. 기질의 폭도 어느정도 형성되고 있었으나 기질내에 상아세관과 같은 구조물은 관찰할 수 없었다. 이들 석회화구조물은 이식치수조직의 내부로 그 형성량을 증가시켜가고 있었으며(사진 7 참조), 기질표면에는 기질형성세포가 보다 많이 나타났다. 이식편주변에는 섬유막의 형성이 현저하게 나타났다. alizarin redS에 대한 염색소견은 H-E염색의 경우에서와 같이 이식주변부에서부터 내부를 향해 적염되었고(사진 11 참조), von Kossa에 대한 반응도 보다 농염되어 나타났으며, 그 반응소견은 관상구조물로서 흑염되어 나타났다.(사진 15 참조)

#### IV. 총괄 및 고안

치수내 석회화구조물의 형성에 관한 실험적연구는 치수조직을 다른 조직에 이식하는 방법과 치수내 화학물질을 국소주입하거나 혹은 수산화 칼슘의 도포 및 기계적으로 치수조직에 손상을 가했을 때 야기되는 것으로 보고 되고있다.<sup>6,9)</sup> 이들의 이소성 석회화(calcergy) 기전은 일반적으로 세포조직의 변성등을 중심으로 경조직이 형성되는 것으로 보고된바 있다.<sup>7)</sup> 수산화칼슘 투여후, 치수조직의 반응을 보면, 절단면에서 수산화칼슘에 접촉된 부분이 피사층을 이루고 그 제사층속에서 탄산칼슘의 과립 집 층이 나타나 창상면에서 방사피막의 역할을 하게되는데, 이때 피사층에 접한 부위에서는 상아아세포와 같은 세포가 나타나 상기 피사층과의 차단벽(barrier) 격인 경조직이 형성되는 것으로 보고있다.<sup>8)</sup> 이식된 치수조직의 경우에서는 이식으로 인해 치수조직의 대사장애가 야기된 부분에 석회염이 침착되어 석회화구조물이 형성되는 것으로 보고있는데 이와같은 치수조직에서의 석회화구조물의 출현은 연령의 증가나 병적으로 인한 치수내의 순환장애 혹은 대사장애에 의해 치수세포내지는 조직의 활성이 저하될때 나타나는 퇴행성 병변의 한 양상

으로 보고있다.

Luostarinen<sup>15)</sup>은 뇌에 치수조직을 이식한 후 128 일 경과예에서 석회화형성을 보고한 바 있는데, 이와같은 현상은 치수조직에서 야기되는 퇴행성 병변중에서도 석회화변성이 가장 빈번하게 나타나는 것의 하나임을 보여주는 것이라 하겠다. 본 실험결과를 일괄하여 볼 때, 이식시술로 인한 혈액분포내지는 순환장애의 이상으로 치수조직의 대사장애가 야기되어 석회화구조물이 발현된 것으로 추정된다. Zussman<sup>2)</sup>의 성숙백서의 치배조직이 포함된 절치 치수 조직을 이식한 예에서 19일간 관찰한 바에 의하면 5~7경부터 석회화현상이 관찰되었음을 보고하였는데, 이는 본 실험결과와 거의 유사하게 나타났다. Ichise<sup>7)</sup>는 이식편에서의 변성과 피사의 일부가 석회화의 시조가 되는것 같다고 보고하고 있으며, 이와 같은 소견을 인용한다면 이식된 치수조직에서의 세포성분내지는 구조물들이 석회암의 핵심으로 작용되었으리라 볼수 있겠다. Tanaka<sup>16)</sup>는 설치류의 절치에 있어 맹출을 일정기간 정지시킨 실험에서 치수석의 형성을 관찰한 바 있으며, 환장애에 의해 석회변성이 야기될 수 있다고 면, 본 실험에서 형성된 석회화구조물도 그와같은 기전에서 비롯된 것이라 하겠다. 이로 인해 형성된 구조물은 기질속에 매입된 세포들의 소견에서 볼때 골과같은 구성요소를 나타내고 있으나 상아기질과 같은 소견은 나타나지 않았다. Zussman<sup>2)</sup>에 의하면 이식시 치수내에 형성되는 골조직 형성세포는 상아아세포라 하였으나 본 실험에서는 이<sup>17)</sup>와 같은 설을 뒷받침할 수 있는 증거는 찾아볼 수 없었다.

골질에 대한 alizarin redS 반응은 칼슘과의 lake형성에 의한 것으로 Bancroft와 Stevns<sup>24)</sup>의 의하면 석회화기질은 극히 석회화가 낮은 기질로 부터 어느정도 석회화된 기질에 이르기까지 모두 양성으로 반응한다고 보고하고 있으나 von Kossa 염색에서는 극히 석회화정도가 낮은 부위에서는 음성으로 반응하고 어느정도 석회화가 진전된 부분에서 점차 양성으로 나타나고 있었다. 치수내 석회화형성에 관한 Suga 및 Gustafson<sup>25)</sup>의 보고에 의하면 초자변성이 수반된 경우와 그렇지 않은 경우에 있어 어떤 염색체가 있는 것으로 보고 있으나 본 실험에서는 내부로 향해 확대되는 경향을 보였다. 아울러 초기 소견에서의 eosinophil한 기질에서 점차 hematoxylin한 기질로 호염되어 나타나며 von Kossa 및 alcianblue에 대한 염색정도 강하게 나타나고 alcian

blue반응도 증명되고 있어 기질의 형성은 먼저 유기 질내지는 단백질이 풍부한 미석회화기질양 구조물이 형성되어 alizarin redS에 대해 반응하게되고 이후, 석회화가 진전됨에 따라 von Kossa에 대한 염색반응이 양성화되어짐은 일반기전에서와 같이 먼저 형성된 기질에 석회염이 침착됨을 시사하는 것이라 하겠다.

Zachrisson<sup>20)</sup>은 구강조직영역에서의 조직변성시 비만세포가 증가 된다고 보고하였고, Asboe-Hansen<sup>21)</sup>등은 이때 산성점액 다당류가 기질내에서 증가 되는 것으로 보고하고 있으나, 이와같은 소견에 대해 Ichise<sup>7)</sup>는 치수조직을 이식한 경우 비만세포의 변동은 없는 것으로 보고하고 있다.

이식조직주변에서의 섬유성분증식은 시일이 경과됨에 따라 그 형성량이 현저하게 증가되고 있는데, 이와같은 경향은 아마도 이식된 치수조직을 이물화시키는 방향으로 반응이 진행될 것으로 추정된다.

점막상피의 이식에서는 일부 장기에 이식한 경우 석회화구조물의 발현이 보고된 바 있으나 본 실험에서는 확인할 수 없었다. 그러나, 이식된 치수조직에서는 비교적 높은 석회화의 잠재성을 갖고 있음을 확인할 수 있었으며 앞으로 보다 다각적인 방향으로 석회화변성기전에 관련을 갖고 지속적인 검색이 이루어져야 하겠으며, 보다 건전한 치수조직을 보존하기 위한 치유방법의 모색에 있어 많은 지침이 제시될 것으로 기대되는 대상이라 하겠다.

## V. 결 언

저자는 실험군으로 백서 치수조직에서 치배조직을 제거한 나머지 조직편을 피하에 동종이식하고, 대조군으로는 구강점막을 같은 방법으로 이식하여 1주, 2주, 3주 및 4주 경과후, 이식부위를 10%중성 formalin에 고정하고, H-E염색과 alizarin redS, von Kossa 및 alcianblue염색을 하여 검경한바, 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 이식상피조직은 석회화되지 않고 상피성낭 형성의 경향을 나타냈다.
2. 이식치수조직의 1주경과 예에서 석회화 구조물은 이식조직 주변부에서 관찰되었으나 alizarin redS 및 von Kossa에 대한 반응은 미약하였고 alcian blue에 대한 반응은 음성이었다.
3. 이식치수조직 2주경과 예 이후 부터 석회화

구조물은 이식주변부터 중심부를 향해 확대되어 광범위 하게 형성되고 있었고 alizarin redS 및 von Kossa에 대한 반응도 증명되어 나타나고 있었다.

4. 이식치수조직의 주변에는 섬유성분이 증식되어 3주이후 부터는 현저하였으며, 4주경에는 상당량의 섬유막이 나타나 이식편을 점차 이물화되는 경향을 나타냈다.

## REFERENCES

1. Sundell, J.R., Stanley, H.R. and White, C.L.: The relationship of coronal pulp stone formation to experimental operative procedures. O.S., O.M. & O.P. 25: 579-589, 1968.
2. Zussman, W.V.: Osteogenic activity of odontoblasts in transplanter tooth pulp. J. Dent. Res. 45: 144-151, 1966.
3. Riley, J.F. and West, G.B.: Skin histamine. 1st location in the tissue mast cells. Arch. Derma., 74: 471-478, 1956.
4. Seltzer, S. and Bender, I.B.: Some influences affecting repair of the exposed pulps of dogs' teeth. J. Dent. Res., 37: 678-687, 1958.
5. Selye, H.: Calciphylaxis, Univ. of Chicago press, Chicago, 1962.
6. Wolff, H.: Histochemical Studies on experimental heterotopic calcification. Histochemia, 9: 354-366, 1967.
7. Kenji Ichise: Pathological studies on calcification of dental pulp with special regard to histological and histochemical studies on the transplanted incisor pulps of the rat. Opn. J. Oral Biol., 25: 195-213, 1983.
8. Shafer, W.G., Hine, M.K. and Levy, B.M.: A Textbook of Oral pathology. 3rd ed., 292-

- 295, W.B. Saunders Co., Philadelphia, 1974.
9. Aoba, T., Ebisu, S. and Yagi, T.: A Study of the mineral phase of pulp calcification. *J. of Oral Path.* 9: 129-136, 1980.
  10. Seeling, A.: The formation of calcified tissue in dental pulps. *N.Y. St. dent. J.*, 22: 260-272, 1956.
  11. Johnson, P.L. and Berelander, G.: Histogenesis and histochemistry of pulpal calcification, *J. Dent. Res.*, 35: 714-722, 1956.
  12. Seltzer, S. and Bender, I.B.: Some influences affecting repair of the exposed pulps of dog's teeth. *J. dent. Res.* 37: 678-687, 1958.
  13. Harrop, T.J. and Mackay, B.: Electron microscopic observations on healing in dental pulp in the rat. *Arch. Oral Biol.*, 13: 365-385, 1968.
  14. Okada, H.: Histochemical studies of experimental heterogenic calcification induced by potassium permanganate in the pulp of the mandibular incisor of Rabbits. *J. dent. Res.* 49: 1458-1468, 1970.
  15. Luostarinen, V. and Roenning, O.: Differences in the osteoinductive potential of transplanted isogenic dental structures of the rat. *Acta anat.* 99: 76-83, 1977.
  16. Tanaka, T.: Development of pulp stones in Rats with experimentally induced pulmonary emphysema: A contribution to the study of mechanism of pulp stone formation. *Bull of Kanagawa dent. Col.* 9: 13-28, 1981.
  17. Lee, S.W.: Experimental study on calcification of transplanted tooth pulp.
  18. Sabrazes, J. and Lafon, C.: *Folia Haemat.* 6:3, 1908.
  19. Weil, P.: *Virchow's Arch. Path. Anat.* 226:212, 1919.
  20. Zachrisson, B.V.: Mast cells of humangingiva. II. Metachromatic mast cells at PH. in healthy and inflamed tissue. *J. Periodont. Res.* 2: 87-105, 1967.
  21. Asboe-Hansen, G.: Mast cells in health and disease. *Bull. N.Y. Acad. Med.*, 44: 1048-1056, 1968.
  22. Matena, V.: Pulp stones in the rat incisor. *J. Dent. Res.* 51: 1678, 1972.
  23. Nam, K.Y.: Histochemical study on the calcified tissue induced by potassium Permanganate in the rabbit dental pulp. *J. Korean Dent. Assoc.* 15: 263, 1977.
  24. Bancroft, J.D., and Stevens, A.: *Theory and Practice of histological techniques.* 258, 2nd ed., Churchill Livingstone, 1982.
  25. Suga, S., and Gustafson, G.: Studies on the development of Rat enamel by means of histochemistry, Microradiography and Polarized light microscopy. *Arch. Oral Biol.*, ORCA, Supplement, Paris. 223, 1962.
  26. Ichise, K.: Pathological studies on calcification of dental pulp with special regard to histological and histochemical studies on the transplanter incisor pulps of the rat. *Japan J. Oral Biol.*, 25: 195, 1983.
  27. Shin, D.J.: An experimental study on bone development induced by the transitional epithelium. *Korean J. Oral Anat.* 8: 10, 1984.

# A STUDY ON THE CALCIFICATION IN THE TRANSPLANTED DENTAL PULP OF THE RATS.

Lee In Sook, Chung Sik, Lee

*Department of Operative Dentistry, Seoul National University.*

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

The intact dental pulps which were free of their tooth bud from adult rat incisors, and oral mucosa were transplanted subcutaneously in homologous rats to study the formation of calcified tissue. The rat were sacrificed after 1,2,3 and 4 weeks following transplantation of dental pulp and oral mucosa.

The samples which contained the transplanted and surrounding tissue were fixed in 10% NBF, stained with hematoxylin and eosin, alizarin red S, von Kossa, and alcian blue.

Microscopic examinstins revealed as follows:

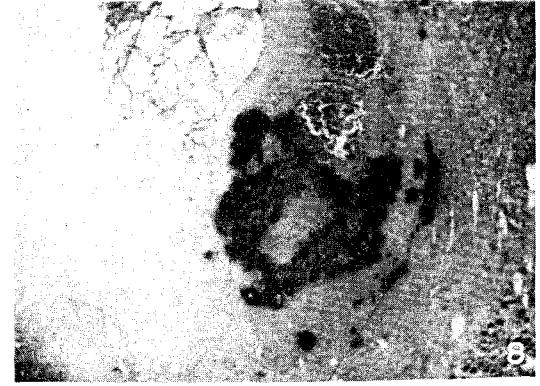
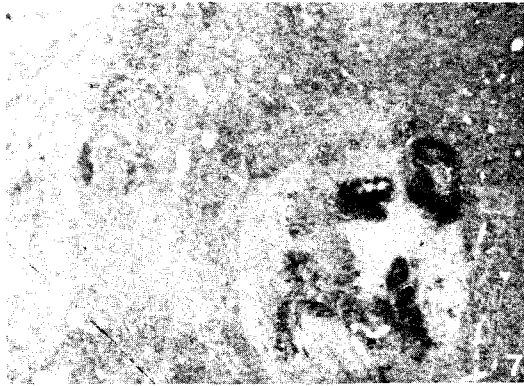
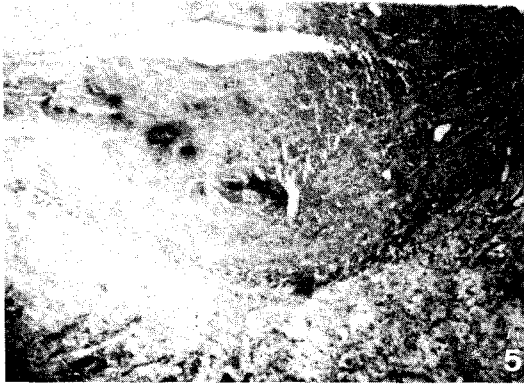
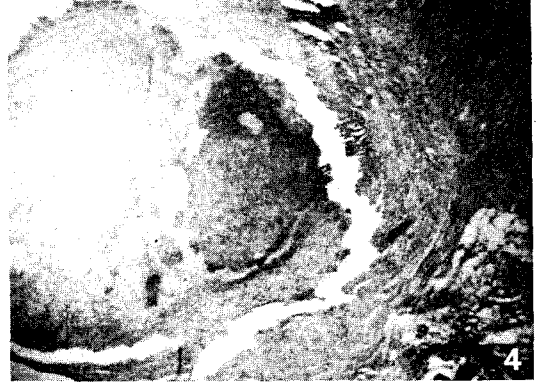
1. The transplanted oral mucosas were not calcified but tended to form the epithelial cysts.
2. At 1 week after transplantation of dental pulp the calcified structures were appeared at the periphery of the transplantation of dental pulp but weakly reacted to alizarin red S, von Kossa, and alcian blue.
3. At 2 weeks after transplantation of dental pulp the calcified structures began to expand from the periphery to the center of the transplanted dental pulp and occupied the large areas comparatively, and strongly reacted to alizarin red S, and von Kossa stains.
4. At 3 weeks after transplantation of pulp tissue the fibrous components were grown at the periphery of the transplanted pulp tissuesand at 4 weeks a large amount of fibrous tissues were observed. The transplanted pulp tissue tended to form foreign bodies gradually.

.....

## EXPLANATION OF PHOTOMICROSCOPH

- Fig. 1.** Pulp examined 7 days after transplantation. (HE X100).
- Fig. 2.** Pulp examined 7 days after transplantation. (alizarin red S. X100).
- Fig. 3.** Oral mucosa examined 7 days after transplantation.
- Fig. 4.** Pulp examined 14 days after transplantation. (HE. X100).
- Fig. 5.** Pulp examined 14 days after transplantation. (alizarin red S. X100).
- Fig. 6.** Oral mucosa examined 14 days after transplantation. (HE. X100).
- Fig. 7.** Pulp examined 21 days after transplantation. (HE. X100)
- Fig. 8.** Pulp examined 21 days after transplantation. (alizarin red S. X100).
- Fig. 9.** Oral mucosa examined 21 days after transplantation. (HE. X100).
- Fig. 10.** Pulp examined 28 days after transplantation. (HE. X100).
- Fig. 11.** Pulp examined 28 days after transplantation. (alizarin red S. X100).
- Fig. 12.** Oral mucosa examined 28 days after transplantation. (HE. X100).
- Fig. 13.** Oral mucosa, examined 21 days after transplantation (alizarin red S. X100).
- Fig. 14.** Oral mucosa examined 21 days after transplantation (von Kossa. X100).
- Fig. 15.** Pulp examined 28 days after transplantation (von Kossa. X100).
- Fig. 16.** Pulp examined 28 days after transplantation (Alcian blue X100).

論文 寫真附圖 ①





論文 寫真附圖 ②

