

# 실험으로 유도된 구개열 마우스의 안면골 성장에 관한 연구

연세대학교 대학원 치의학과

(지도 유 영 규 교수)

## 전 윤 식

### I. 서 론

안면에 발생하는 선천성 기형중에 하나인<sup>37)</sup> 구개열의 원인은 유전인자와 환경인자들 간의 상호작용에 의한 복합적 요인에 의한 결합으로 알려져 있을뿐 그 발생기전은 물론 정상구개 형성에 관한 조절기전조차 명확히 밝혀져 있지 않다. 그러나 구개의 형태학적인 발생과정을 크게 4단계로 나눌수 있는데 첫 단계는 상악 내하방에서 구개돌기의 발생이며 둘째는 돌기의 상승 및 방향전환을 거치고, 셋째는 마주한 두 돌기의 상피성 융합, 마지막으로 융합상피의 용해에 따른 간엽조직의 융합이다. 이러한 과정에서 구개돌기의 이동에는 구개조직 기질의 성분이나 합성<sup>19,36,50)</sup> 구개의 비근육성 수축계<sup>8,27,49)</sup> 및 신경전달 물질 등<sup>27,47)</sup> 내인성 요소와 허를 비롯한 구강주위의 외인성 요소들이 관여한다고 추정하고 있다.<sup>1,7,8,13,39,42,43,46,51)</sup> 구개열을 유발하는 최기형 물질로는 corticosteroid<sup>42)</sup>, hypervitaminosis A<sup>41)</sup>, X-irradiation<sup>40)</sup>, 6-aminonicotinamide<sup>41)</sup>, barbiturate<sup>44)</sup> diphenylhydantoin<sup>32)</sup>, methyl mercury<sup>33)</sup>,  $\beta$ -aminopropionitrile<sup>3)</sup> 등이 알려져 있으며 이중에서도 cortisone 은 1950년 Baxter와 Fraser<sup>4)</sup>가 구개열을 유발시키는데 사용한 약제로서 그 이후 가장 폭 넓게 이용되어 왔다. corticosteroid의 구개열 유발기전에 대해서는 여러 의견이 있는데 기질의 합성을 억제함으로써 구개안면의 성장을 저지한다는 의견이 있고<sup>20,36)</sup> triamcinolone acetonide 투여로 구개조직의 조직학적 변화는

없었으나 구개돌기의 상승을 지연시킨다는 주장도 있고<sup>14,36,45)</sup> 돌기접합부 상피의 계획된 퇴화를 지연시킨다는 보고도 있다.<sup>15,17,45)</sup> 구개열 외에 corticosteroid는 발생중인 실험동물에 약리학적 용량 혹은 그 이하의 소량을 투여 하였을때 구개열 유발은 물론 성장지연, 심장기형 및 안면두개결손 등의 기형을 초래하는 강력한 기형원으로 밝혀졌고 특히 합성제재인 triamcinolone acetonide는 다른 corticosteroid계 약물과 비교하여 최기성이 높은것으로 보고되어 있으며<sup>40)</sup> 국내에서 triamcinolone acetonide의 최기형적 효과에 대한 연구로는 서<sup>54)</sup>, 이<sup>55)</sup> 등이 있다.

그러나 이러한 연구들은 구개발생시기에 triamcinolone의 최기형적 효과만을 중점적으로 다룬것으로서 구개형성 후에 안면골의 성장 및 형태에 관하여는 거의 보고된바 없어 본 실험을 통하여 출생직전 구개열 마우스의 안면골 성장을 비교연구한 결과 다소의 지견을 얻었기에 이에 보고하는 바이다.

### II. 연구재료 및 방법

#### 가. 실험동물 및 처리

암수분리 수용하여 표준식이와 물만으로 사육된 체중 25 gm 내외의 임신경력이 없는 DDY 마우스를 오전 8시부터 4시간동안 동거시킨후 질색 전분이 발견되면 수정된것으로 보고 이날을 임신제 0 일로, 수정시간은 오전 10 시로 간주하였다. DDY 마우스에서는 발생 제 13 일에 구개돌기의 형

성이 시작되어 15.5일에 구개형성이 완료되며 triamcinolone acetonide (이하 TA로 약칭)에 대한 발생 시기별 반응에서 발생 13.5 일에서 14일이 TA에 가장 민감하여 구개열 발생빈도가 가장 높았다는 보고에<sup>55)</sup> 따라 이날을 TA 투여날로 정하였다.

실험동물은 우선 아무것도 주사하지 않은 정상군과 TA 용매로 쓰인 무수 알콜을 투여한 대조군(대조1군) 및 TA 투여군으로 나누었고 TA 투여군은 각각 발생 제 13.5일과 14일 2회에 걸쳐 triamcinolone acetonide (Sigma사 제품)를 체중 0.5 mg/kg (용적 30  $\mu\ell$  내외)씩 대퇴부에 근육주사하였으며 대조군도 같은시기에 같은용적의 무수알콜을 주사하였다. 그후 정상군과 대조군 및 TA 투여군 모두를 발생 제 18일에 ether 마취하에 개복, 태자를 꺼내어 각 태자마다 numbering을 한후 체중을 측정하고 Bouin씨 용액에 고정하였고 TA 처치군은 표본제작과정을 통하여 다시 구개열이 유발된 군(실험군)과 구개열이 유발되지 않은군(대조2군)으로 구분하였다. 또한 골화정도를 관찰하기 위해 각군에서 Bouin씨 용액에 고정하기 직전에 태자 4마리씩을 취하여 이중염색법을 시행하였다.

Bouin씨 용액에 고정된 태자의 수는 표1과 같다.

Table 1. Classification of groups and number of fetus

Group	Number of fetus
G1 (Normal)	20
G2 (Control 1)	24
G3 (Control 2)	38
G4 (Experimental)	26

#### 나. 표본제작

##### 1. 태자의 두개안면골 사진제작

Bouin씨 용액에 고정된 태자는 hyoid bone을 포함하여 절단한 두부를 취한후 통법에 따라 파라핀포매 후 정중시상 절단면(mid-sagittal section)을 얻기위해 10  $\mu m$  간격으로 연속절단된 표본을 현미경으로 관찰한후 비중격 연골, 후두개,

Meckel 씨 연골, 설연골(Hyoid cartilage), 뇌하수체, 정중두개 기저 연골을 통과하는 표본을 택했다.<sup>18)</sup>

선택된 표본은 H-E 염색후 Zeiss photomicroscope로 8배 확대된 사진을 얻고 이를 다시 5배 확대하여 결국 처음 표본에 비해 40배 확대된 사진을 얻었다(사진부도설명 Figure 1, 2).

#### 2. 골화 관찰을 위한 이중염색법

골 및 연골의 골화 정도를 염색상으로 알아보기 위하여 모체로부터 적출한 태자는 즉시 70°C 수조에 30초간 담갔다가 피부 및 지방조직을 제거하였고 또한 복강을 통해 내장을 모두 제거하였다. 그리고 골 염색을 위한 alizarin red S와 연골에 대한 alcian blue 그리고 고정을 위한 빙초산 및 alcohol 등의 농도 및 양은 Kimmel<sup>26)</sup> 등의 방법에 따라 배합하였고 고정염색액의 양은 보통 표본용적의 10배를 사용하였으며 피부와 내장이 제거된 표본은 즉시 염색·고정액에 넣어 몇번 흔든후 상온에 방치하였고 고정염색에서 육안적으로 충분히 염색이 되었다고 인정이되면 2% KOH 용액으로 옮겨 골격이외의 조직이 최대로 연화되면서 관절이 해리되기전까지 침연시킨후 이를 증류수와 글리세린 1:1 및 1:3 비율로 배합된 용액에 차례로 옮겨 투명화 시키면서 마지막으로 순수 글리세린에 보존하였고 구개열을 확인하기 위해 하악골을 제거한후 구개면 및 두개골의 골화를 관찰하였다(사진부도설명 Figure 3, 4).

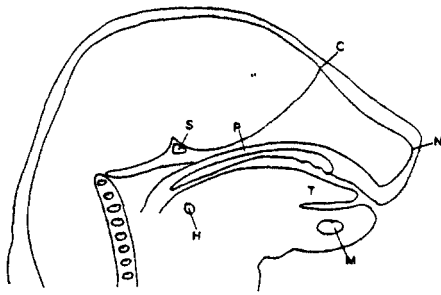
#### 다. 계측법 및 통계처리

40배로 얻어진 사진위에 acetate matte 지를 대고 계측점( Fig. 1 )을 정한후 이 계측점을 이용하여 선계측 및 각계측( Fig. 2, Fig. 3, Fig. 4, Fig. 5, Fig. 6 )을 시행하였고 각 군간에 어떤 유의성이 있는지를 알아보기 위해 Scheffe의 다중비교방법으로 일원분산분석(one-way ANOVA)을 시행하였다.

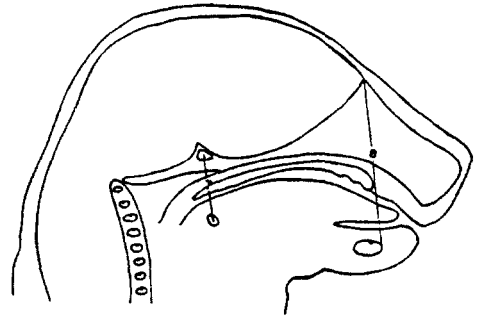
### III. 연구성적

#### 가. 태자의 체중

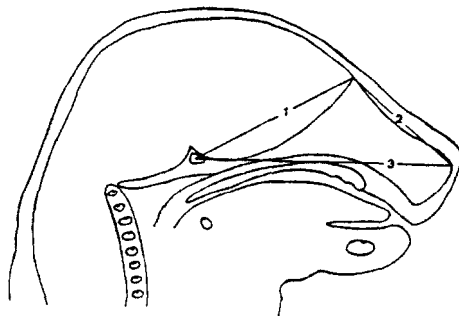
각군의 태자의 체중은 표 2와 같다.



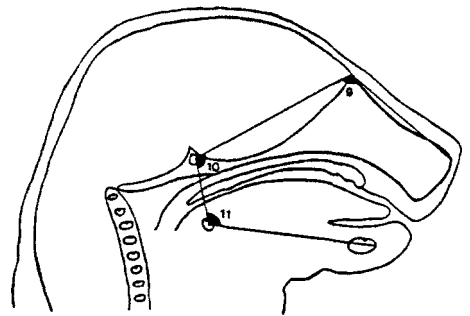
**Fig. 1.** Midsagittal section of 18-day DDY mouse, illustrating cephalometric landmarks: S; center of hypophysis cereberi, C; highest point of superior contour of crista galli, N; superior point of nasal septum, P; palate, H; midpoint of hyoid cartilage, T; tongue, M; anterior point of Meckel's cartilage



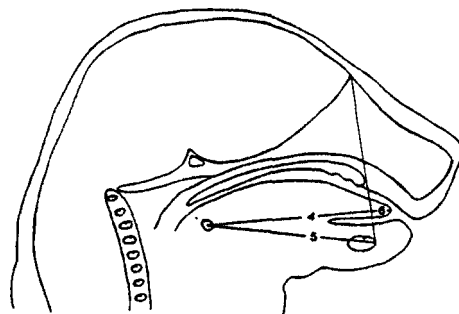
**Fig. 4.** Linear measurements of facial height  
7. S-H; posterior facial height  
8. C-M; anterior facial height



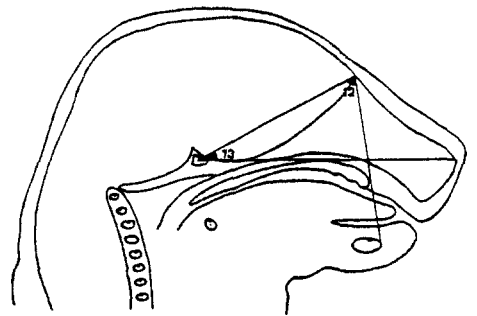
**Fig. 2.** Linear measurements of craniomaxillary region  
1. S-C; cranial base length  
2. C-N; maxillary height  
3. S-N; maxillary length



**Fig. 5.** Angular measurements of cranio-hyoid-mandibular region  
9.  $\angle$  SCN; cranio nasal angle  
10.  $\angle$  CSH; cranio hyoid angle  
11.  $\angle$  SHM; hyoid mandibular angle



**Fig. 3.** Linear measurements of mandible and tongue  
4. H-T; tongue length  
5. H-M; mandibular length  
6. CM  $\perp$  T; protrusion of tongue



**Fig. 6.** Angular measurements of cranio-maxillary and mandibular region  
12.  $\angle$  SCM; cranio mandibular angle  
13.  $\angle$  CSN; cranio maxillary angle

Table 2. Means ( $\pm$ S.D) of body weights in each group (gm)

Group	Body weight
G1	1.12 $\pm$ 0.05
G2	1.11 $\pm$ 0.07
G3	1.09 $\pm$ 0.07
G4	0.97 $\pm$ 0.07
p-value	0.000*

유의성 검정결과 1, 2, 3 군간에는 유의의 차가 없었으며 제 4 군 즉 구개열군은 다른 세군에 비해 저체중인것으로 나타났다.

나. 구개열 발생률

TA로 처리된 태자 68 마리중 ( 이중염색법을 위해 취한 4 마리 포함 ) 구개열을 보인 태자는 28 마리로서 ( 이중염색법에서 2 마리 포함 ) 구개열 발생율은 41.2 % 였다.

다. 계측선 및 계측선 비율

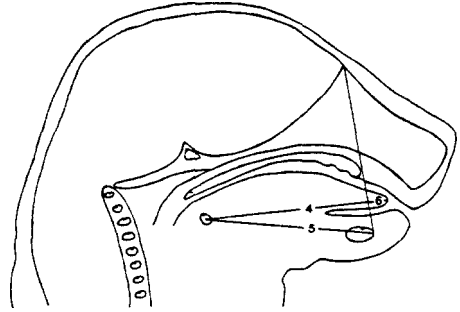


Table 4. Means ( $\pm$ S.D) of linear measurements of mandible and tongue in each group (mm)

Group	H - T	H - M	CMIT
G1	52.00 $\pm$ 1.75	50.15 $\pm$ 2.40	3.97 $\pm$ 1.26
G2	51.85 $\pm$ 2.13	50.56 $\pm$ 3.21	3.90 $\pm$ 1.44
G3	52.44 $\pm$ 2.24	50.10 $\pm$ 2.54	3.99 $\pm$ 1.10
G4	52.31 $\pm$ 2.08	51.73 $\pm$ 2.18	2.79 $\pm$ 0.97
p-value	0.698	0.000*	0.000*

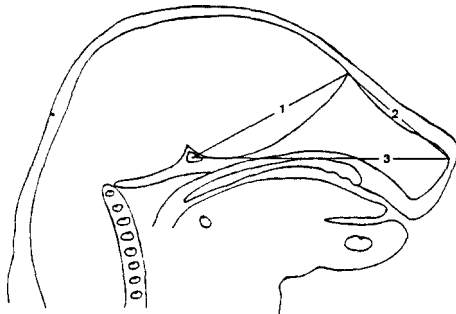


Table 3. Means ( $\pm$ S.D) of linear measurements of craniomaxillary region in each group (mm)

Group	S - C	C - N	S - N
G1	51.31 $\pm$ 1.37	33.22 $\pm$ 2.52	72.18 $\pm$ 2.27
G2	51.60 $\pm$ 2.23	33.68 $\pm$ 2.40	72.54 $\pm$ 2.9
G3	51.69 $\pm$ 1.91	33.59 $\pm$ 3.41	72.18 $\pm$ 2.5
G4	52.11 $\pm$ 1.47	33.33 $\pm$ 2.64	72.32 $\pm$ 1.92
p-value	0.076	0.204	0.239

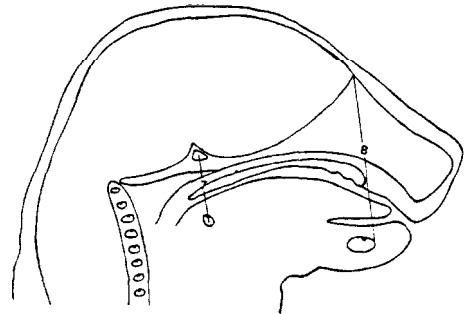


Table 5. Means ( $\pm$ S.D) of linear measurements of facial height in each group (mm)

Group	S - H	C - M
G1	18.52 $\pm$ 1.25	46.38 $\pm$ 1.81
G2	18.91 $\pm$ 1.42	46.60 $\pm$ 2.64
G3	19.02 $\pm$ 2.24	46.39 $\pm$ 2.37
G4	18.41 $\pm$ 1.46	47.42 $\pm$ 2.28
p-value	0.241	0.084

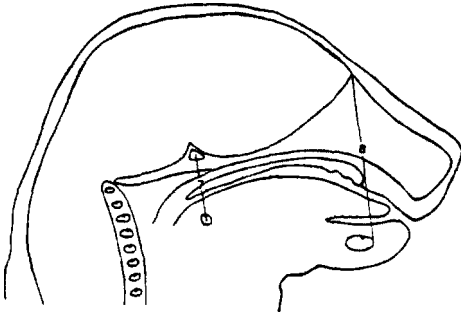


Table 6. Means ( $\pm$ S.D.) of ratio of linear measurements in each group

Group	S-C/S-N	S-N/H-M	S-H/C-M
G1	0.72 $\pm$ 0.14	1.47 $\pm$ 0.06	0.40 $\pm$ 0.21
G2	0.71 $\pm$ 0.02	1.45 $\pm$ 0.06	0.42 $\pm$ 0.22
G3	0.71 $\pm$ 0.01	1.46 $\pm$ 0.05	0.41 $\pm$ 0.18
G4	0.70 $\pm$ 0.06	1.41 $\pm$ 0.06	0.42 $\pm$ 0.02
p-value	0.373	0.000*	0.148

라. 계 측 각

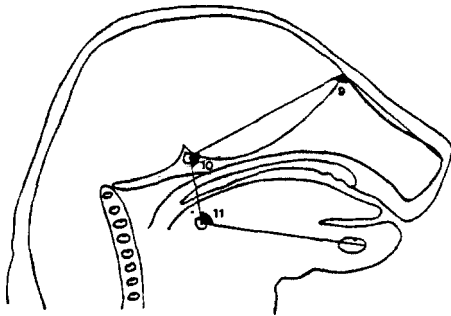


Table 7. Means ( $\pm$ S.D.) of angular measurements of cranio-hyoid-mandibular region in each group

Group	$\angle$ SCN	$\angle$ CSH	$\angle$ SHM
G1	115.13 $\pm$ 3.12	102.15 $\pm$ 5.48	108.78 $\pm$ 5.04
G2	115.46 $\pm$ 3.96	102.04 $\pm$ 3.68	108.79 $\pm$ 5.20
G3	115.83 $\pm$ 4.22	104.13 $\pm$ 3.47	108.28 $\pm$ 3.39
G4	115.01 $\pm$ 3.92	103.63 $\pm$ 4.10	107.62 $\pm$ 3.71
p-value	0.073	0.146	0.084

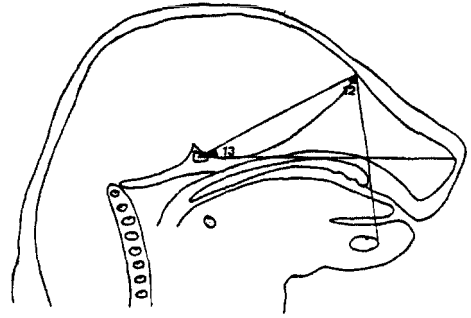


Table 8. Means ( $\pm$ S.D.) of angular measurements of cranio maxillary and mandibular region in each group

Group	$\angle$ SCM	$\angle$ CSN
G1	72.38 $\pm$ 2.70	25.15 $\pm$ 2.04
G2	72.25 $\pm$ 2.49	25.89 $\pm$ 2.02
G3	72.54 $\pm$ 2.43	25.47 $\pm$ 2.05
G4	74.13 $\pm$ 2.60	25.17 $\pm$ 1.57
p-value	0.000*	0.012

이상의 계측선 및 계측각을 통하여 나타난 현상은 하악골의 길이가 다른군에 비해 구개열군에서 약간 큰것으로 나타났으며 ( $\alpha < 0.01$ ) 이와 관련된 계측선 즉 C-M에 대한 tongue protrusion 정도 및 계측선 비율 S-N/H-M에서 유의성을 ( $\alpha < 0.01$ ) 나타내었고 다른계측선 및 계측선비율은 모든군에서 같은것으로 나타났다.

또한 계측각에서도  $\angle$ SCM에서만 구개열군이 다른 세군에 비해 약간 큰것으로 나타났을뿐 다른 계측항목에서는 유의성이 없는것으로 나타났다.

마. 이중염색법에 의한 골화정도

정상군과 alcohol 군 그리고 TA처치군중 구개열이 발생 하지 않은군, 그리고 구개열군 내군사이에 육안적으로 두부크기의 차이는 발견할 수 없었으며 골, 연골 이중 염색상 골화정도는 구개열군에서 전반적으로 골화가 지연되었다 (사진부도 설명 Figure 3, 4).

#### Ⅳ. 총괄 및 고찰

Corticosteroid는 성숙조직에서 각종물질대사를 조정하며<sup>5)</sup> 태의 발달 과정에서는 각종조직의 성숙을 촉진시키며 또한 insulin이나 thyroxin 등 성장 인자들과 함께 이차구개의 정상발달에도 필수적인 물질로 알려져있다.<sup>3)</sup>

그러나 corticosteroid가 정량 보다 많거나 혹은 적게 흡수될때 태자의 기형을 초래하며 David Salomon<sup>38)</sup> 등이 corticosteroid의 과량투여가 두개안면골의 성장을 억제하기 때문에 구개열이 발생한다고 실험을 통하여 규명하였고, 임상적으로 불임여성이 임신을 목적으로 glucocorticoid 투여시 저체중 태아를 분만한다는 사실을 간접적인 증거로 제시하였다.

Corticosteroid가 생체에 투입되면 그 대부분이 대사되지 않은채 태반을 거쳐 태자에 직접작용하여 기형을 유발시킨다고 하며<sup>52)</sup> corticosteroid의 최기성과 구개형성과 관련된 주장을 요약해보면 3가지로 집약되는데 첫째는 corticosteroid치의 상승은 세포내에 이에대한 수용체를 증가시켜 collagen의 합성을 억제하며 이로인해 두개안면의 성장이 억제되어 구개열이 유발한다고하여 실제로 corticosteroid에 감수성이 높은 동물의 구개조직에서 감수성이 낮은 동물보다 steroid수용체 단백질량이 증가되었다고 하며 동수용체에 대한 친화력은 천연 steroid보다 triancimolone acetone와 같은 합성 steroid에서 높으며 기형원적 효과도 이와 상관관계가 있음을 암시하였다.<sup>20,35)</sup> 둘째는 Walker와 Patterson<sup>45)</sup>이 corticosteroid 투여시 구개돌기의 상승지연을 실험을 통하여 증명하였는바 지연된 구개돌기의 상승은 허를 제거함으로써 정상적으로 상승된다하여 구개열의 원인이 허와 관련된 돌기상승지연에 기인된것이라고 주장하고있고 구개돌기상승 지연후에도 두개(cranium)의 성장은 계속됨으로서 결국 돌기가 상승되었을 때는 두돌기사이가 접합하기에는 너무멀리 떨어지게된것이 원인이라고 설명하고 있으며 Diewert와 Pratt<sup>14)</sup>는 구개돌기의 광범위 접합의 실패에 의해서 구개열이 발생한다고하며 계측을 통해 돌기의 상승지연과 함께 상대적으로 돌

기가 작아진다고 보고하고 있다.

셋째로 corticosteroid가 구개돌기의 상승을 지연시키지만 결국상승되며 돌기의 상피성접합도 방해하지 않으며 오히려 상피의 퇴화과정을 지연시켜 구개형성의 마지막 단계인 간엽성융합과정을 억제하는 것이다.<sup>15,17,21)</sup>

Walker와 Fraser<sup>42)</sup>는 구개돌기의 이동에는 구강내 혹은 머리의 발육등과 관계하는 어떤 가설적인 한계점이 존재하여 이 한계점을 넘으면 구개열이 발생한다고 하였고 Lahti<sup>28)</sup> 등은 여러종의 마우스에서 corticosteroid에 대한 구개돌기의 상승지연은 모두 발견할 수 있었으나 구개의 발생은 큰 차이를 보여 이러한 차이는 바로 가설적인 한계점이 존재하기 때문이라 하였고 이러한 한계점을 구성하는 요소들을 제거하면 최기형 물질을 투여해도 구개열이 발생되지 않는다고 하였다.

Walker와 Fraser<sup>42)</sup>, Atnip<sup>2)</sup>은 구개돌기의 상승에는 구개돌기 자체내의 내적인 힘이 존재한다고 주장하였고 Larsson<sup>29)</sup>과 Jacobs<sup>24)</sup>는 sulfomucopolysaccharide가 바로 내적인 힘이라고 하였다.

구개돌기의 상승과 관련된 내인성요인으로 구개의 비근육성 수축계 및 이와 관련된 신경성 전달물질의 연관설로서 상승직전의 구개돌기 간엽세포가 상당량의 actin과 myosin 등 수축성 단백질을 합성한다고 하며 또한 serotonin이나 acetylcholine 투여로 구개이동이 억제된다는 것이다.

Lessard<sup>31)</sup>는 수축성 단백질인 actin과 myosin이 구개내에 존재하여 구개돌기의 운동에 크게 작용한다고 하였다.

또다른 내인성요인은 구개조직 기질의 성분 및 합성으로 돌기상승전에 glycosaminoglycan이 크게 증가하며 이중 약 60%가 hyaluronin 산으로서 이는 수분과 친화성이 높아 이의 형성과 축적은 곧 삼투압을 증가시켜 이로인해 배(胚)조직의 부종과 돌기의 상승이 유도된다고 보고되어있다.<sup>30)</sup> 또한 Hassell과 Orkin<sup>19)</sup>은 구개돌기 상승직전에 상당량의 collagen이 합성되며 이들은 항상 기저막가까이에 그것도 구개돌기의 장축방향으로 배열한다고하여 돌기상승과 관련있음을 시사하여 왔다.

구개돌기의 상승 및 방향전환과정에서 대표적인 외인성요소로 지목되고있는 혀는 돌기상승직전에 내인성 근섬유가 분화되면서 하강하며<sup>61)</sup> 혀내에 발생중인 운동종말판에서 acetylcholine esterase 활성이 증명되면서<sup>23)</sup> 혀의하강과 구개돌기의 상승시에 관련이 있음을 시사하였으나 혀를 제거하거나 근이완제를 투여해도 돌기의 상승이나 구개형성이 정상으로 진행된다고하여 이의 중요성을 부인하는 보고도 있다.<sup>24)</sup>

이<sup>56)</sup> 등은 triamcinolone acetonide 투여로 인한 구개열유발은 구개돌기의 형태가 굵어지고 짧아졌으며 끝이 상당히 무디어져 있는것으로 보아 돌기자체에 변화를 주어 양측돌기의 접합자체의 실패에 기인한것으로 보고있다.

triamcinolone acetonide 에 의한 구개열 감수성을 Zimmerman 과 Bowen<sup>63)</sup> 이 A/J 마우스에서 100%, C<sub>3</sub>H 마우스에서 40%를 보고하였고 Holst 와 Mills<sup>22)</sup> 는 Wistar 백서에서 50%를 서<sup>54)</sup> 는 Sprague Dawley 백서에서 93%의 발생율을 보였고 이<sup>56)</sup> 는 DDY 마우스에서 모체와 태자의 체중감소폭이 클수록 구개열 발생빈도가 높다고 하였으며 88.4%의 발생율을 보였다. 그러나 본실험에서는 DDY 마우스에서 41.2%의 비교적 낮은 발생율을 보였는데 이는 태자 개체간에 도달하는 약물의 threshold 가 다를수 있으며 또 같은 마우스라 할지라도 구개형성시기가 조금씩 차이가 있기때문인 것으로 생각된다.

본 실험에서 태자의 체중변화는 구개열군이 다른 세군에 비해 저체중 ( $\alpha < 0.01$ ) 인 것으로 나타났으며 이<sup>56)</sup> 의 실험에서도 태생 18일에 실험군이 대조군에 비해 저체중인 것으로 나타났다.

Triamcinolone acetonide 투여로 인한 체중변화는 DDY 마우스에서 구개형성시기인 13.5 일에서 14일에 현저한 차이를 보이다가 점차 회복되는 양상을 보인다.

두개 안면골의 길이 및 각계측 항목에서는 하악골의 길이를 제외한 다른 항목은 특기할만한 사항이 없었다. 즉 하악의 길이 계측항목에서는 구개열군이 약간 큰것으로 나타났고 facial plane 에 대한 혀의 전후방위도 구개열군에서 후방에 위치하는 것으로 나타났다. 그러나 이는 혀의 길이가 네군에

서 같은것으로 나타났고 설연골 (hyoid cartilage) 의 위치도 ( $\angle$ CSH) 유의의 차를 보이지 않아이것 역시 하악골의 길이 증가로 생각된다.

그러나 구개열군의 저체중 및 골화염색정도에서 미흡한 염색상 등으로 미루어 볼때 하악골의 길이 증가 및 다른 골격부위의 정상적인 크기는 쉽게 이해될 수 없으나 Deuschle 과 Kalter<sup>12)</sup> 에 의하면 마우스에서 자연발생적으로 발생된 구개열은 정상적인 하악의 길이를 유지하며 cortisone 으로 유도된 구개열은 오히려 하악의 길이가 크다 하였다. 그러나 Chamberlain 과 Nelson<sup>11)</sup> 은 백서에서, Jelineck 과 Peterka<sup>25)</sup> 는 마우스에서 하악후퇴가 구개열유발에 크게 기여한다고 하였으나 Shih<sup>39)</sup> 등은 구개 형성시기에 하악의 길이 감소와 구개열 발생과는 무관하다고 하였고 서<sup>54)</sup> 등은 구개형성시기에 현저한 하악후퇴를 보였고 점차 회복되기는 하나 태생 17일제에도 대조군과 비교시 크기의 감소를 보였다고 보고했다.

Diewert<sup>13)</sup> 는 6-aminocotiramide 를 투여한 백서에서 임신시기와는 무관하게 구개형성시기에 상악에비해 하악의 발육이 더욱 억제된다고 하였고 태생 17일에도 구개열군이 대조군에 비해 현저한 하악골의 후퇴를 보였다.

Cortisone으로 유도된 구개열마우스에서 하악골의 증가는 하악골의 premolar corpus 의 길이가 증가된 것이라고 Deuschle 과 Kaltar<sup>12)</sup> 는 주장하며 이는 riboflavin 결핍으로 유도된 구개열 백서에서의 하악골 후퇴와는 대립되지만 이것을 하악골의 과성장으로 해석해서는 아니된다고 하였다. 본 실험을 통하여 구개열과 하악길이의 증가를 어떤 원인 및 결과로 설명할수는 없으며 하악골의 길이증가에도 불구하고 구개열군의 저 체중 및 미약한 골화를 설명하기에는 더욱 연구하여 규명되어야 하겠다.

## V. 결 론

구개발생시기에 triamcinolone acetonide를 투여했을때 태자의 저체중 및 두개 안면골의 성장장애등에 대해서는 이미 여러 학자들에 의해 언급되었지만 구개형성후에 어떠한 성장형태를 나타

내능지를 알아보기위해 25 gm 내외의 임신경력이 없는 자성 DDY 마우스를 구개발생시기인 임신 제 13.5 일과 14 일, 2회에 걸쳐 TA를 대퇴부에 근육주사한후 임신 제 18일에 실험동물을 희생시켜 얻은 태자 108 마리를 이용하여 연구한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. Triamcinolone acetoneide 투여시 구개열 발생율은 41.2% 였다.
2. 구개열군이 대조군에 비해 저체중을 보였다.
3. 구개열군이 대조군에 비해 하악골의 길이가 컸다.
4. 이중염색법에 의한 골화염색정도는 구개열군이 대조군에 비해 약했다.
5. Facial plane (C-M)에 대한 설첨(tongue tip)의 전후방위치는 구개열군이 대조군에 비해 후방에 위치하였다.
6. 구개열군에서 facial plane (C-M)에 대한 설첨의 후방위치는 혀의 길이감소나 혀의 후퇴로 인한 것이 아니라 하악골의 길이 증가로 나타났다.
7. 두개저에 대한 설골(hyoid bone)의 전후방 관계는 모든군에서 차이가 없었다.

### 참 고 문 헌

1. Asling, C.W., et al.: The development of cleft palate resulting from maternal pteroylglutamic (folic) acid deficiency during the latter half of gestation in rats, Surg. Gynec. Obst. 111: 19-28, 1960.
2. Atnip, R.L.: The role of surface tension in experimentally induced elevation of embryonic palatal shelves, Anat. Rec. 145:308, 1963.
3. Barrow, M.V., and Steffek, A.J.: Teratologic and other embryo toxic effects of  $\beta$ -aminopropionitrile in rats. Teratology, 10: 165-172, 1974.
4. Baxter, M., and Fraser, F.C.: Production of congenital defects in the offspring of female

mice treated with Cortisone, McGill Med. J., 19: 245-249, 1950.

5. Baxter, M., and Forsham, P.H.: Tissue effects of glucocorticoids, Am. J. Med. 53:573-589, 1972.
6. Biddle, F. G., and Fraser, F. C.: Cortisone-induced cleft palate in the mouse; a search for the genetic control of the embryonic response trait, Genetics, 85: 289-302, 1977.
7. Brinkely, L. L., and Vickerman, M. M.: The mechanical role of the cranial base in palatal shelf movement; an experimental reexamination, J. Embryol. Exp. Morph. 48: 93-100, 1978.
8. \_\_\_\_\_: Elevation of lesioned palatal shelves in vitro, J. Embryol. Exp. Morph. 54: 229-240, 1979.
9. Burdi, A., et al.: Etiology and pathogenesis of congenital cleft lip and cleft palate and NIDR state of the art report, Teratology 6: 255-270, 1972.
10. Callas, G., and Walker, B.E.: Palate morphogenesis in mouse embryo after X-irradiation, Anat. Rec. 145:61-71, 1963.
11. Chamberlain, J.G.: Development of cleft palate induced by 6-aminonicotinamide late in rat gestation, Anat. Rec. 156: 31-40, 1966.
12. Deuschle, F.M., and Kalter, H.: Observation on the mandible in association with defects of the lip and palate, J. Dent. Res. 41: 1085-1095, 1962.
13. Diewert, V. M.: Correlation between mandibular retrognathia and induction of cleft palate with 6-aminonicotinamide in rat, Teratology 19: 213-228, 1979.
14. Diewert, V.M., and Pratt, R.M.: Cortisone induced cleft palate in A/J mice: Failure of



- palatal shelf contact, *Teratology*, 24: 149-162, 1981.
15. Goldman, A.S., et al.: Inhibition of programmed cell death in the fetal palate by Cortisol, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 166; 418-424, 1981.
  16. Goldman, A.S., et al.: Human fetal palatal corticoid receptors and teratogens from cleft palate, *Nature*, 272: 464-466, 1978.
  17. Greene, R.M., and Kochhar, D.M.: Some aspects of cortico-steroid-induced cleft palate; A review, *Teratology*, 11: 47-56, 1975.
  18. Hart, J.C., et al.: Sagittal growth of the craniofacial complex in normal embryonic mice, *Archs Oral Biol*, 14: 995-997, 1969.
  19. Hassell, J.R., and Orkin, R.W.: Synthesis and distribution of collagen in the rat palate during shelf elevation, *Devel. Biol.* 49: 80-88, 1976.
  20. Hendrickx, A.G., et al.: Craniofacial and central nervous system malformations induced by triamcinolone acetonide in nonhuman primates, I. General Teratogenicity, *Teratology*, 22: 103-114, 1980.
  21. Herold, R. C., and Futran, N.: Effect of cortisol on medial edge epithelium of organ cultured single palatal shelves from steroid-susceptible mouse strains, *Archs Oral Biol.*, 25: 423-429, 1980.
  22. Holst, P.A., and Mills, B.G.: Tissue phosphatase change following triamcinolone acetonide with cleft palate in rats, *Teratology*, 11:57-64, 1975.
  23. Holt, M.: A light and electron microscopic cytochemical study of the tongue of normal and teratological mice, *Anat. Res.* 174: 378 - , 1974.
  24. Jacobs, R.M.: Histochemical study of morphogenesis and teratogenesis of the palate in mouse embryos, *Anat. Rec.* 149: 691-698, 1964.
  25. Jelinek, R., and Peterka, M.: The role of the mandible in mouse palatal development revisited, *Cleft Palate J.* 14: 211-221, 1977.
  26. Kimmel, C.A., and Trammell, C.: A rapid procedure for routine double staining of cartilage and bone in fetal and adult animals, *Stain Tech.*, 56: 271-273, 1981.
  27. Kuhn, E.M., et al.: Palate morphogenesis. I. Immunological and ultrastructural analysis of mouse palate, *Teratology*, 21: 209-223, 1980.
  28. Lahti, A., et al.: The effect of hydrocortisone on the closure of the palatal shelves in two inbred strains of mice in vivo and in vitro, *Teratology*, 6: 37-42, 1972.
  29. Larsson, K.S.: Studies on the closure of the secondary palate IV. Autoradiographic and histochemical studies of mouse embryos from cortisone treated mothers, *Acta. Morph. Neerl Scand.* 4: 369-387, 1962.
  30. Laurent, T.C.: Structure of hyaluronic acid. In: *Chemistry and Molecular Biology of the Inter Cellular Matrix*, Academic Press, 2:703 - , 1970.
  31. Lessad, J.L., et al.: Presence of contractile proteins in mouse fetal palate to shelf elevation, *Teratology*, 9; 113-126, 1974.
  32. Miller, R.P., and Backer, B.A.: Teratogenicity of oral diazepam and diphenylhydantoin in mice, *Toxicology and Applied Pharmacology*, 32: 53-61, 1975.
  33. Olson, F.C., and Massaro, E.J.: Effects of methyl mercury of murine fetal amino acid uptake, protein synthesis and palate closure,

- Teratology 16: 179-194, 1977.
34. Pratt, R.M., et al.: Acid mucopolysaccharide synthesis in the secondary palate of the developing rat at the time of rotation and fusion. *Devel. Biol.* 32: 230-327, 1973.
  35. \_\_\_\_\_: Glucocorticoid teratogenesis in mouse whole embryo culture. *Teratology*, 30: 71-81, 1984.
  36. \_\_\_\_\_: Cortisone-induced cleft palate in the brachymorphic mouse, *Teratogen. Carcinogen. Mutagen.* 1:15-23, 1980.
  37. Pruzansky, S.: Cleft lip and palate; therapy and preventions. *J. Am. Dent. Assoc.* 87: 1048-1054, 1973.
  38. Salomon, D.S., and Pratt, R.M.: Involvement of glucocorticoids in the development of the secondary palate, *Differentiation.* 13: 141-154, 1979.
  39. Shih, L., et al.: Relation of mandible growth to palate closure in mice, *Teratology* 9: 191-202, 1974.
  40. Walker, B.E.: Cleft palate produced in mice by human equivalent dosage with triamcinolone, *Science.* 149: 862-863, 1965.
  41. Walker, B.E., and Crain, B.J.: Effects of hypervitaminosis A on palate development in two strains of mice, *Am. J. Anat.* 107: 49-58, 1960.
  42. Walker, B.E., and Fraser, F.C.: The embryology of cortisone induced cleft palate, *J. Embryol. Exp. Morph.* 5:201-209, 1957.
  43. Walker, B.E., and Patterson, A.: The mechanism of cortisone induced cleft palate, *J. Dent. Res.* 55:63, 1974.
  44. \_\_\_\_\_: Induction of cleft palate in mice by tranquilizers and barbiturates, *Teratology.* 10: 159-164, 1974.
  45. \_\_\_\_\_: Palatal development after fetal tongue removal in cortisone treated mice, *Teratology.* 17: 51-56, 1978.
  46. Walker, B.W., and Quarles, J.: Palatal development in mouse fetuses after tongue removal, *Archs Oral Biol.* 21: 405, 1976.
  47. Wee, E.L., and Babiartz, B.S., Zimmerman, S. and Zimmerman, E.F.: Palate morphogenesis. IV. Effects of serotonin and its antagonists on rotation and embryo culture. *J. Embryol. Exp. Morph.* 53: 75-90, 1979.
  48. Wee, W.L., Phillips, N.J., Babiartz, B., and Zimmerman, E.F.: Palate morphogenesis. V. Effects of cholinergic agonists and antagonists on rotation in embryo culture, *J. Embryol. Exp. Morph.* 58: 177-193, 1980..
  49. Wee, E.L., and Zimmerman, E.F.: Palate morphogenesis. II. contraction of cytoplasmic processes in ATP-induced palate rotation in glycerinated mouse heads, *Teratology.* 21: 15-27, 1980.
  50. Wilk, A. L., King, C.T.G., and Pratt, R.M.: Chlorocyclizine induction of cleft palate in the rat; degradation of palatal glycosaminoglycans. *Teratology*, 18: 199-209, 1978.
  51. Wragg, L.E., Smith, J.A., and Boden, C.S.: Myoneural maturation and function of the fetal rat tongue at the time of secondary palate closure, *Archs Oral Biol.* 17: 673-782, 1972.
  52. Zarrow, M.X., et al.: Passage of C<sup>14</sup>-4-corticosterone from the rat mother to the foetus and neonate, *Nature*, 226: 1058-1059, 1970.
  53. Zimmerman, E.F., and Bowen, D.: Distribution and metabolism of triamcinolone acetamide in inbred mice with different cleft palate sensitivities, *Teratology.* 5:335-344, 1972.
  54. 서석환, 정인혁, 이영호, 신태선 : 최기형

물질로 유도된 구개열에 있어서 구개판의 변화에 대한 실험적 연구, 연세의대논문집. 17: 114-123, 1984

55. 이주원, 최평화, 전용혁 : 구개형성에 대한 Triamcinolone Acetonide 의 기형원적 효과, 고대의대논문집. 22: 259-268, 1985

### 사진부도 및 설명

Photographs of various sections of craniofacial region in DDY mouse on day 18 of gestation (plug day = day 0)

- Figure 1. Mid sagittal section of the control group.
- Figure 2. Mid sagittal section of the cleft palate group.
- Figure 3. Palatal view of double staining in the control group.
- Figure 4. Palatal view of double staining in the cleft palate group.
- Figure 5. Palatal view of normal palate.
- Figure 6. Palatal view of cleft palate.
- Figure 7. Coronal section of the control group.
- Figure 8. Coronal section of the cleft palate group.
- Figure 9. Coronal section (x40) of control palate.
- Figure 10. Coronal section (x40) of cleft palate.

## ABSTRACT

### A STUDY ON FACIAL BONE GROWTH OF PALATAL CLEFTS EXPERIMENTALLY INDUCED IN MICE

Youn Sic Chun

Department of Dental Science, Graduate School,  
Yonsei University

(Directed by Professor Young Kyu Ryu, D.D.S., Ph. D.)

In methods of finding causes for cleft palate, many cases have been studied by investigators using teratogenic agents. Among them, a synthetic agent known as triamcinolone acetate (TA) was widely used. When this drug was injected into mice during palatogenesis, it induced lowered body weight and a deformed mandible. But many cases have been studied on growth changes, only of the developmental stages of the palate.

Therefore, the objective of this study was to evaluate craniofacial growth in experimentally induced cleft palate mice after finishing palatogenesis namely just before birth. Normal, alcohol treated, and TA treated DDY mice were obtained at 18-days of gestation and heads were prepared for serial sectioning in the sagittal plane. The midsagittal sections were photographically enlarged (x40) and measurements made to assess the amount of growth.

The obtained results were as follows.

1. The incidence of cleft palate was 41.2% when TA was injected.
2. The body weight of the cleft palate group was lower than the control group.
3. In the cleft palate group, mandibular length (H-M) was lighter than the control group.
4. In the cleft palate group, degree of staining was not distinct compared to the control group by the double staining method.
5. In the cleft palate group, anteroposterior posture of the tongue tip to facial plane (C-M) was more posterior than the control group.
6. The cause of posterior posture of the tongue tip to facial plane (C-M) in the cleft palate group, was not short and retracted tongue but the mandibular length was increased.
7. The anteroposterior relationship of hyoid cartilage to cranial base was the same in all groups.

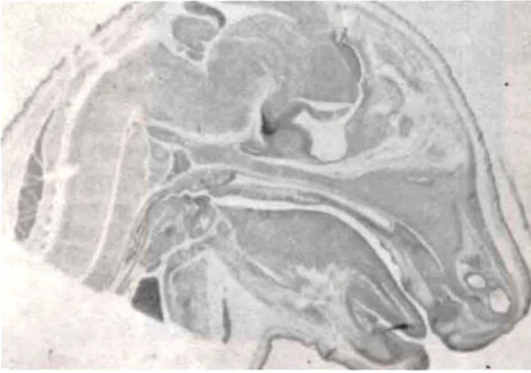


Figure 1.

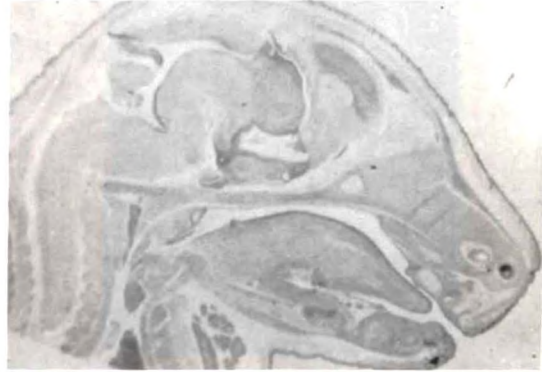


Figure 2.

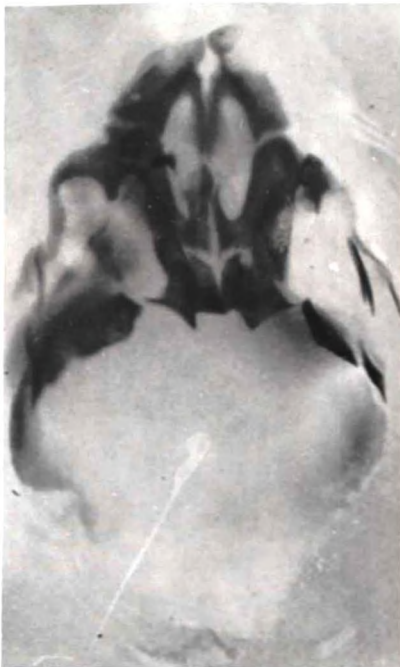


Figure 3.

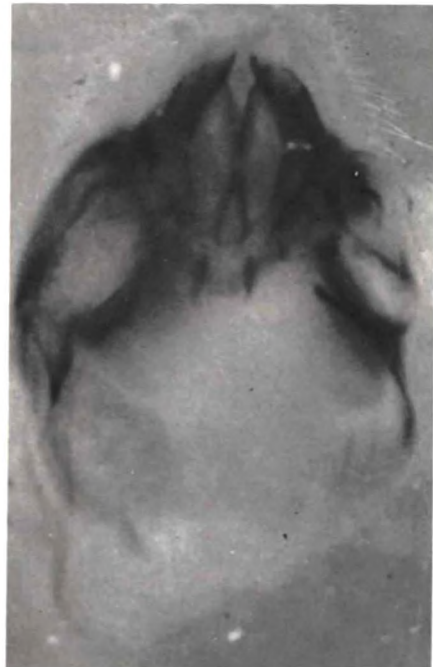


Figure 4.

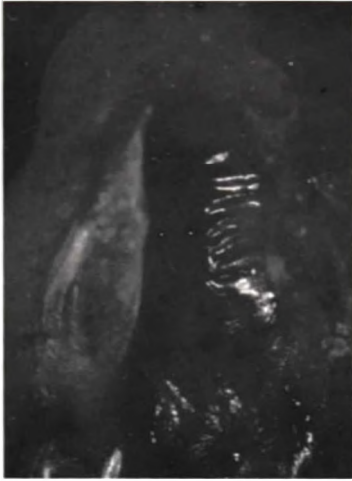


Figure 5.

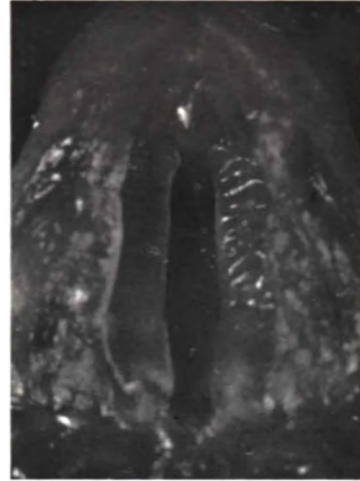


Figure 6.



Figure 7.



Figure 8.



Figure 9.



Figure 10.