

발생중인 흰쥐에 전신적으로 투여된 불소가 골형성에 미치는 영향

임도선*, 안용순, 김은숙, 배형준¹, 장병수²
서울보건대학 치위생과, ¹임상병리과, ²동남보건대학 임상병리과

The Effects of Fluoride Administered Systemically during Rat Development on Forming Bone

Do Seon Lim*, Yong Soon Ahn, Eun Sook Kim,
Hyung Joon Bae¹ and Byung Soo Chang²

Department of Dental Hygiene, Department of

¹Medical Technology, Seoul Health Collage, Sungnam 461 713, Korea

²Department of Clinical Pathology, Dongnam Health Collage, Suwon 440 714, Korea

(Received August 1, 2002; Accepted August 31, 2002)

ABSTRACT

The purpose of this study was to observe the influences of the water fluoride concentration on the growth changes, the histologic characteristics of osteoblast in the tibia of growing newborn rats by using electron microscopy and on the composition changes of bone matrix in those by using energy dispersive x ray system (EDX). The water fluoride concentration was respectively 0 ppm (contrast group), 100 ppm (100 ppm group), 200 ppm (200 ppm group) and 300 ppm (300 ppm group).

The results of the investigation by using electron microscopy were as followed. In contrast group, the traditional cuboidal osteoblasts were observed. In 100 ppm group, several reversal line, the newly formed osteoid by the strongly activated osteoblast and the well developed rough endoplasmic reticulum, mitochondria in cytoplasm of osteoblast were observed. Also, many secretory vesicle around cell membrane were observed and some fused with cell membrane released secretory granule out of cell. In 200 ppm group, the depressed osteoblasts were observed, mitochondria in cytoplasm were expanded and cristae shape in mitochondria were destroyed. Also, the ribosome at the surface of rough endoplasmic reticulum were not observed. In 300 ppm group, the adjacent osteoblasts with endosteum were irregularly arranged, the cell membrane were destroyed and organelles were flowed out of cell. On the other hand, the results of the investigation by using energy dispersive x-ray system were as followed. P and Ca concentrations in 100 ppm group were increased more than those in contrast group. But, in 200 and 300 ppm group were not increased more than those in 100 ppm group.

Therefore, the activities of the osteoblasts were increased, the bone matrix were actively synthesized by the

이 논문은 2001년 서울보건대학 학술연구비의 지원을 받아 연구되었음.

* Correspondence should be addressed to Dr. Do Seon Lim, Department of Dental Hygiene, Seoul Health Collage, Sungnam 461-713, Korea. Ph.: 031-740-7229, FAX: 031-740-7247, E-mail: idsun@shjc.ac.kr

Copyright © 2002 Korean Society of Electron Microscopy

supplied water fluoride. But, the osteoblasts were destroyed, inhibited by the higher water fluoride concentration.

Key words : Fluoride, Osteoblast, Osteoid, Reversal line

서 론

불소는 식품과 음료수 및 자연계에 널리 분포되어 있는 미량원소로 치아와 다른 경조직에도 함유되어 있는 인체의 필수원소로 알려져 있다(Epker, 1967). 인체 내에서 불소의 대사는 혈장내의 농도차에 따라 세포내액에서 비례적으로 변화가 일어난다(Heifetz & Horowitz, 1984). 체내에 흡수된 불소는 약 50%가 소변으로 배설되고 나머지는 체조직에 축적된다.

불소의 주된 체내 흡수 경로는 소화관과 폐이다. 경구적으로 섭취된 불소는 주로 소장상부와 위에서 신속히 흡수된다. 그러나 불화칼슘 등과 같이 침전되기 쉬운 불용성 불화물은 흡수되지 않는다. 흡수된 불소는 전신에 분포하지만 특히 골과 치아 등의 경조직에 많이 침착된다. 경조직에 침착된 불소도 그 흡수량이 적어지면 자연적으로 유리되어 배설된다. 그러나 경조직으로부터 유리되는 정도는 매우 완만하게 진행되어 장시간 잔류한다.

불소의 유해성에는 일정 농도 이상의 불소를 장기간에 걸쳐 체내에 섭취할 경우, 만성 불소중독으로 골경화증(bone eburnation)과 반상치(mottled teeth)가 있다. 반면, 불소는 치아우식(dental caries)의 방지에 효과가 있고, 또한 탈회된 법랑질을 재석회화를 촉진시킨다고 알려져 있다.

이에 따라 불소의 안전성에 관하여 많은 연구가 진행되어 왔다. Hrudey et al. (1990)은 불소가 인체내에서 골조직과 친화성이 매우 높다는 점에 착안하여 불소와 골육중간의 연관성을 조사하였는데 각기 다른 시기에 음용수의 불소화를 시작한 두 도시에서 골육중 발생율의 차이를 보이지 않는다고 하였다. Bucher et al. (1991)은 백서에 2년간 불소를 투여한 결과 79 mg/l와 45 mg/l의 불소를 투여한 군의 응성백서에서만 각각 4/80와 1/50의 비율로 골육중이 발생하였으나, 통계적으로는 불소와 골육중 발생간에 아

무런 유의성이 없다고 하였다. Baylink & Bernstein (1967)은 실제 과량의 불화소다로 치료를 받는 골조송중 환자에서 조직학적으로 골내의 질적인 변화를 보고하였으며 그 원인으로써 고농도의 불소투여는 실험동물에서 골형성을 증가시키고 파골세포에 의한 골흡수면을 증가시키며, 골흡수보다 골생성을 증가시켜 결과적으로 골기질을 증가시킬 수 있고, 유골면적을 증가시키는 등 광물화 결손을 유발시킨다고 보고하였다. Ream (1981)은 120 ppm의 불소를 음용수에 섞어 4주 동안 쥐에 섭취시킨 대퇴골에 관한 연구에서 대퇴골간의 골외막 표면의 넓은 부위에서 골성조직이 생성되었고 골성조직의 증가는 골성조직 생성세포 수의 증가에 기인하며 골모세포의 대사 활성화는 영향을 받지 않았다고 보고하였다.

그러나 이러한 음용수의 불소화의 안전성 및 효능에 반대하여 많은 연구자들이 불소의 세포독성과 발암성을 주장하였다. Rigalli et al. (1990)은 높은 농도의 불소 섭취는 인슐린 분비장애를 일으킨다고 하였으며, Das et al. (1994)은 장기간에 걸쳐 하루에 30 mg의 불화나트륨을 인간에게 섭취시켰을 때 상부 위장관에 조직병리학적 이상소견이 관찰되며 임상적 장애현상이 나타났다고 보고하였다. 이런 불소의 세포독성 및 발암성에 대한 연구들은 모두 음용수에 사용하는 불소농도(0.7~1.2 ppm)보다 수십배 또는 수백배에 이르는 농도에서 실험한 결과이므로 음용수의 불소화를 반대하는 논리로 그 결과에 대한 신빙성이 부족하다고 할 수 있겠다.

이와 같이 불소의 여러 가지 작용 중 특히 골이나 연골조직에 관한 연구는 지금까지 일부에서 동물실험이나 조직배양을 통한 실험들이 이루어져 왔으나(Chavassieux et al., 1993), 국내에서는 거의 미비한 실정이다. 결론적으로 불화물 투여에 의한 치아우식증의 예방효과는 다른 부수적인 불소 투여 방법들과 마찬가지로 많은 연구자들에 의해 이미 입증된 사실이다. 그러나, 아직까지는 불소 투여에 의한 전신적

영향에 대해서는 별로 연구된 바가 없는 실정이다.

이에 본 연구는 여러 농도(0, 100, 200 및 300 ppm)의 불소를 백서에 투여한 후, 백서 경골의 성분변화를 에너지분산분광기를 통하여 분석하고 전자현미경으로 골을 형성하는 골모세포의 조직학적인 변화를 관찰하여 불소의 전신적 투여가 백서 경골의 특성적 변화에 미치는 영향에 대하여 알아보고자 하였다.

재료 및 방법

1. 실험재료

서울대학교 치과대학 동물실에서 사육한 체중 150~200 g 내외의 Sprague-Dawley계 흰쥐 30마리를 선별하여 임신시켰다. 이후 생후 11일째 되는 어린 흰쥐를 암수 구별 없이 대조군과 세 그룹의 실험군으로 나누어 미세구조 관찰과 골기질 성분분석에 사용하였다. 대조군 어미흰쥐에게 임신직후부터 출생 11일째 되는 어린 흰쥐를 희생하는 날까지 증류수를 공급하고, 실험군은 100, 200 및 300 ppm의 각기 다른 농도의 불소용액을 어미 흰쥐에 식수로 제공한 후, 출생 후부터 11일 되는 날까지는 증류수를 공급하고 생후 11일에 체중 20~25 g 내외의 어린 흰쥐를 희생하여 실험에 사용하였다.

2. 광학현미경적 방법

생후 11일째 되는 체중 20~25g 내외의 어린 흰쥐를 ether로 마취시킨 후, 2.5% glutaraldehyde 용액(0.1 M cacodylate buffer, pH 7.4)으로 좌심실을 통하여 관류고정한 후, 대퇴골을 절취하여 동일 용액에 1시간 30분 동안 전고정하고 4% EDTA 용액(2.5% glutaraldehyde)에 약 4주 동안 냉장실에서 탈회하였다. 탈회가 끝난 시료를 흐르는 수돗물에 수세한 다음, 단계적으로 ethanol에서 탈수하고 xylene으로 치환하여 paraffin (56~58°C)으로 포매하였다. 포매된 시료는 절편기(Reichert-Jung 2050, Germany)를 이용하여 5µm 두께로 절단하고 slide glass 위에 부착시킨 후, 신전기 위에서 12시간 동안 건조시켰다. 건조된 절편은 paraffin을 제거한 다음 수화시켜서 Hematoxylin-

Eosin으로 염색하였다. 염색이 끝난 절편은 탈수과정을 거쳐 Poly-Mount로 봉입하여 광학현미경(Olympus BH-2, Japan)으로 관찰하였다.

3. 투과전자현미경적 방법

각 그룹의 어린 흰쥐를 ether로 마취시킨 후, 2.5% glutaraldehyde 용액(0.1 M cacodylate buffer, pH 7.4)으로 좌심실을 통하여 관류고정한 후, 대퇴골을 절취하여 동일 용액에 1시간 30분 동안 전고정하고 4% EDTA 용액으로 4°C에서 약 4주 동안 탈회하였다. 탈회가 끝난 후 2% OsO₄ 용액에 후고정하고 0.1 M cacodylate buffer (pH 7.4)로 2회 세척후, 단계적으로 ethanol에서 탈수하였다. 미세구조 관찰을 위해서 Epon mixture에 포매하고 1µm 박절편을 modified multiple stain (Polyscience Co.) 용액으로 염색하여 광학현미경으로 관찰하였다. 동일한 부위에서 은색절편을 제작하여 copper grid (200 mesh)에 부착시킨 후, uranyl acetate와 lead citrate로 이중 염색하여 투과전자현미경(JEOL 1200 CX, Japan)으로 80 kV 하에서 관찰하였다.

4. 에너지분산분광 분석

주사전자현미경 관찰 표본과 동일한 방법으로 절편을 만든 후 Ca, P 원소의 분포양상을 알아보기 위해 에너지분산분광분석기(INCA, Oxford Ins., Great Britain)를 사용하였다. 이때 가속전압은 15kV이었다.

결 과

1. 광학 및 전자현미경 관찰

1) 대조군

증류수를 음용시킨 대조군의 광학현미경상에서 골모세포(osteoblast)는 골 내면과 골수 사이에서 단층의 입방형으로 배열되어 있었고, 골조직에는 하버스관(Haversian canal)이 가로로 절단되어 나타났다(Fig. 1). 전자현미경상에서 골모세포는 인접한 세포와 gap junction과 tight junction에 의해서 연결되어 있었으며, 입방형의 형태를 띠고 있었다. 세포질내에는 조

면소포체가 세포질 전체에 산재되어 존재하였고, 소포체의 수조(cristae)가 확장되어 있었다. 또한 미토콘드리아는 구형 또는 장방형의 형태로 소포체 사이에 위치하였으며, 직경이 약 $0.5\mu\text{m}$ 로 나타났다. 핵은 불규칙한 형태로 염색질이 고르게 분포되어 있었다 (Fig. 2).

2) 100 ppm 불소투여군

100 ppm 불소투여군의 광학현미경상에서 골조직은 활성화 강한 골모세포에 의해 생성된 골기질로 채워지면서 여러층의 반전선(reversal line)이 형성되었다. 반전선과 인접한 골모세포 사이에는 이들 세포에서 생성된 골성조직(osteoid)이 관찰되었다. 또한, 골내막에 이장된 골모세포는 대조군에 비해 단층상피형태로 균일하게 배열되어 있었다(Fig. 3). 전자현미경상에서 골기질 합성이 왕성한 골모세포의 세포질은 조면소포체가 세포질 전체에 걸쳐 잘 발달되어 있었고, 세포막과 인접한 부위에는 많은 분비소포들이 관찰되었으며 일부는 세포막과 융합되어 분비물질이 세포 밖으로 방출되었다. 세포막은 많은 세포질돌기를 가지고 있었다. 이미 형성된 골기질과 새롭게 형성되는 골기질 사이에는 불규칙한 반전선이 관찰되었다. 반전선과 골모세포 사이에는 약 $5\mu\text{m}$ 의 골성조직이 생성되어 나타났다(Fig. 4).

3) 200 ppm 불소투여군

200 ppm 불소투여군의 광학현미경상에서 활성화 저하된 골모세포는 대조군에 비해 세포사이 공간을 확인할 수 있었으며, 이들 조직에서 반전선은 관찰되지 않았다(Fig. 5). 전자현미경상에서 골모세포와 인접한 세포사이에는 $0.8\sim 1\mu\text{m}$ 의 세포사이 공간이 관찰되었고, 세포사이 연결장치의 상실로 인해 골모세포는 길게 신장되어 있었다. 세포질에서 미토콘드리아는 팽창되어 있었고 수조의 형태가 파괴되어 나타났다. 대조군에서 미토콘드리아의 직경은 약 $0.5\mu\text{m}$ 로 관찰되었지만, 본 실험군에서 미토콘드리아는 대조군에 비해 약 두 배로 팽창되어 $1\mu\text{m}$ 의 크기를 나타내었다. 또한 조면세포체의 표면에는 리보솜이 탈락되어 관찰되었다. 핵은 염색질이 응축되었고 전자밀도가 높게 관찰되었다(Fig. 6).

Table 1. The changes of bone constituent before and after administration of various concentrations of sodium fluoride

Group	Element(atomic %)	
	P	Ca
Control	24.94	63.22
100 ppm	26.19	66.31
200 ppm	26.10	63.46
300 ppm	26.26	62.95

4) 300 ppm 불소투여군

300 ppm의 고농도 불소투여군의 광학현미경상에서 골내막과 인접한 골모세포는 불규칙하게 배열되어 있었고(Fig. 7), 일부세포는 위축된 형태로 관찰되었으며, 이들 부위는 과염되어 나타났다. 또한, 전자현미경상에서 골모세포의 세포질은 파괴되어 세포성분이 세포 밖으로 용출되어 있었으며 핵막은 매우 불규칙한 형태로 관찰되었다(Fig. 8).

2. 에너지분산분광분석

불소투여에 따른 골기질 성분변화 분석은 대조군에서 인(P)이 24.94%, 칼슘(Ca)이 63.22%이었고, 100 ppm 불소투여군의 경우 인이 26.19%, 칼슘이 66.31%로 나타났다. 200 ppm 불소투여군에서는 인이 26.10%, 칼슘이 63.46%이었고, 300 ppm 불소투여군의 경우, 인이 26.26%, 칼슘이 62.96%로 측정되었다. 불소투여의 농도에 따른 골기질의 칼슘과 인의 성분변화는 100 ppm의 불소투여시 증가하였으나, 고농도 투여시는 더 이상 증가하지 않았다(Table 1).

고 찰

불소는 거의 모든 조직에 소량으로 존재하고 있으며, 특히 골격에 집중되어 존재한다(Adams & Jowsey, 1965). 불소이온은 sodium fluoride와 calcium fluoride 형태로 소장을 통해 거의 완벽하게 흡수된다. 소량의 불소($0.7\sim 1.5\text{ ppm}$)를 혼합한 음용수의 섭취는 어린이에게 치아우식증을 감소시킨다(Jenkins, 1970). 그러나, 대량의 불소 섭취는 골의 성장과 무기질화에 심각한 변화를 초래할 수 있다.

특수결합조직인 골은 인체를 지지해주고 동시에 Ca 이온의 방출에 의한 체내 이온 농도를 조절 해주는 중요한 역할을 한다. 성숙한 골의 건조 중량에서 유기성분은 45% 정도이고 나머지는 무기성분에 속한다. 유기물질은 약 90%가 아교질로 이루어져 있으며 나머지는 비교원섬유, 지방, 탄수화물로 구성된다 (Fejerskov et al., 1996).

골모세포는 골기질의 합성이 왕성한 세포로 골에서 alkaline phosphatase를 함유하고 있는 유일한 세포이다 (Doty & Schofield, 1976). 이 효소는 골 형성과정에서 유기질의 형성에 관여하는 것으로 알려져 있다. 본 연구에서 대조군과 100 ppm 불소투여군의 경골에서 골모세포는 전형적인 입방형의 특징을 가지고 있었고 골모세포의 세포질에는 조면세포체의 수조가 확장되어 있었으며, 이들 수조에는 전자밀도가 낮은 물질들로 채워져 있었다. 특히, 100 ppm의 실험군에서 골모세포의 세포막에 인접한 부위에는 많은 분비과립들이 방출되기 직전의 상태로 관찰되었다.

Ream (1981)의 보고에 의하면, 불소는 골 외막에 있는 골모세포에서 alkaline phosphatase의 생성을 억제하지 못하는 것으로 보고하였는데, 본 연구에서도 100 ppm 불소투여군에서 골모세포는 정상군에서보다 오히려 골기질의 합성이 왕성한 것을 확인할 수 있었다. 이와 같은 결과는 Turner et al. (1992)과 Lindskog et al. (1989)이 보고한 바와 같이 경골의 골외막에서 일정농도의 불소가 골모세포의 활성을 증가시켜 골기질의 합성을 촉진시키는 것으로 사료된다.

골조직 강도의 변화는 골다공성의 증가와 골기질의 아교질과 glycosaminoglycan 성분의 감소에 의해서 야기된다. Turner et al. (1995)은 0, 5, 15, 50 ppm의 불소함유 음용수를 쥐에 각각 섭취시키면서 3, 6, 12, 18개월 동안 사육한 후 안락사 시켜 불소가 골 강도에 미치는 영향에 대한 보고에서 50 ppm의 불소를 음용시켜 18개월간 사육한 쥐의 골 무기질화에 대한 어떠한 변화도 관찰되지 않았다고 하였다.

본 연구에서 0, 100, 200 및 300 ppm의 불소를 음용시킨 백서 경골조직의 형태적인 변화는 100 ppm의 불소를 음용시킨 실험군에서 골기질의 합성이 왕성하여 수 개의 반전선이 형성되고 골내막에 인접한 골모세포들이 단층입방상피의 형태로 뚜렷하게 관찰

되었다. 그러나, 200 ppm 불소투여군에서 반전선의 형성은 감소되었고, 골모세포의 핵은 위축되었으며, 300 ppm의 실험군에서는 골모세포가 파괴되어 관찰되었다. 이와 같은 결과는 태내백서의 골형성과정 중에 전신적으로 투여된 100 ppm의 불소투여군의 경우 골형성이 활발하게 진행되었고, 고농도로 증가시킬 경우 오히려 골형성을 억제한다는 사실을 확인할 수 있었다.

본 연구에서 대조군과 각 농도의 불소투여 실험군의 경골에 대한 에너지분산광분석기를 이용한 칼슘과 인의 성분변화에 관한 결과는 100 ppm 불소투여군은 대조군에 비해 칼슘과 인이 다소 증가하는 것을 확인하였고 고농도 불소투여시는 점차 감소되는 것을 확인하였다. 그러나, 불소를 음용 시킨 쥐의 혈청에서 칼슘과 인의 성분변화는 거의 없었다고 보고된 바 있으며 (Raisz & Taves, 1967; Zucas et al., 1971), Ream (1981)은 alkaline phosphatase가 불소를 투여 한 후 약간 증가하는 것을 확인하였다. 본 연구의 불소투여에 의한 골조직의 칼슘과 인의 성분변화에 관한 결과에서는 100 ppm의 불소 투여시 골의 무기질화가 활발하게 진행되는 것을 관찰할 수 있었다.

참 고 문 헌

- Adams PH, Jowsey J: Sodium fluoride in the treatment of osteoporosis and other bone diseases. *Ann Intern Med* 63 : 1151 1155, 1965.
- Baylink D, Bernstein DS: The effects of fluoride therapy on metabolic bone disease. *Clin Orthop* 55 : 51 58, 1967.
- Bucher JR, Hejtmancik MR, Toft JD, Persing RL, Eustis SL, Haseman JK: Result and conclusions of the National Toxicology Program's rodent carcinogenicity studies with sodium fluoride. *Inter J Cancer* 48 : 733 737, 1991.
- Chavassieux P, Chenu C, Valetin Opran A: In vitro exposure to sodium fluoride does not modify activity or proliferation of human osteoblastic cells in primary cultures. *J Bone Miner Res* 8 : 37 44, 1993.
- Das TK, Susheela AK, Gupta IP, Dasarathy S, Tandon RK: Toxic effects of chronic fluoride ingestion on the upper gastrointestinal tract. *J Clin Gastroentero* 18 : 194 199, 1994.

Doty SB, Schofield BH: Enzyme histochemistry of bone and cartilage cells. *Prog Histochem Cytochem* 8:1 37, 1976.

Epker BN: A quantitative microscopic study of bone remodeling and balance in a human with skeletal fluorosis. *Clin Orthop* 55: 87 93, 1967.

Fejerskov O, Ekstrand J, Burt BA: Fluoride in dentistry, 2nd ed., Munksgaard, Copenhagen, pp. 88 95, 1996.

Heifetz SB, Horowitz HS: Amount of fluoride in current fluoride therapies: Safety considerations for children. *ASDC J Dent Child* 51: 257 269, 1984.

Hrudey SE, Soskolne CL, Berkel J, Fin CS: Drinking water fluoridation and osteosarcoma. *Can J Public Health* 81: 415 416, 1990.

Jenkins GN: Mechanism of action of fluoride in reducing dental caries. In: Vischer TL (ed) Fluoride in medicine. Hans Huber, Bern, pp. 88, 1970.

Lindskog S, Flores ME, Lilja E, Hammarstrom L: Effect of a high dose of fluoride on resorbing osteoclasts in vivo. *Scand J Dent Res* 97: 483 487, 1989.

Raisz LG, Taves DR: The effect of fluoride on parathyroid function and responsiveness in the rat. *Cal Tissue Res* 1: 219 228, 1967.

Ream LJ: The effect of short term fluoride ingestion on bone formation and resorption in the rat femur. *Cell Tissue Res* 221: 421 430, 1981.

Rigalli A, Ballina JC, Roveri E, Puche RC: Inhibitory effect of fluoride on the secretion of insulin. *Calc Tissue Inter* 46: 333 338, 1990.

Turner CH, Alchter MP, Heaney RP: The effects of fluoridated water on bone strength. *J Orthop Res* 10: 581 587, 1992.

Turner CH, Hasegawa K, Zhang W, Wilson M, Li Y, Dunipace AJ: Fluoride reduces bone strength in older rats. *J*

Dent Res 74(8): 1475 1481, 1995.

Zucas SM, Zipkin I, Krantz L: The non role of fluoride in the control plasma calcium in the parathyroidectomized rat. *Arch Oral Biol* 16: 977 979, 1971.

< 국문초록 >

본 연구는 전자현미경을 이용하여 음용 불소가 발생 중인 경골의 성장변화와 골모세포의 조직학적 특성에 미치는 영향을 관찰하고 에너지분광분석기를 사용하여 불소의 투여 농도에 따른 골기질 성분변화를 알아보고자 하였다. 전자현미경 관찰 결과, 대조군에서는 입방형의 전형적인 골모세포가 관찰되었다. 100 ppm 불소투여군의 경우, 활성이 강한 골모세포에 의해 생성된 여러층의 반전선과 새로 형성된 골성조직이 관찰되었다. 또한 골모세포의 세포질은 잘 발달된 조면세포체와 미토콘드리아가 관찰되었고 세포막 주위에는 많은 분비소포들이 관찰되었으며, 일부는 세포막과 융합되어 분비물질이 세포 밖으로 방출되었다. 200 ppm 불소투여군에서는 활성이 저하된 골모세포가 관찰되었는데, 세포질내에는 미토콘드리아가 팽창되어 있었고 수조의 형태가 파괴되어 나타났다. 또한, 조면세포체의 표면에는 리보솜이 탈락되어 관찰되었다. 300 ppm의 고농도 불소투여군에서는 골내막과 인접한 골모세포는 불규칙하게 배열되어 있었고, 세포막은 파괴되어 세포성분이 세포 밖으로 용출되어 관찰되었다. 한편, 에너지분광분석 결과는 대조군에 비해 100 ppm 불소투여군에서 골기질 성분인 인과 칼슘이 증가하였으나 200 ppm 및 300 ppm 불소투여군에서는 더 이상 증가하지 않았다. 따라서 본 연구결과, 투여된 불소에 의해 골모세포의 활동이 활발해지고 왕성한 골기질 합성이 관찰되었으나, 고농도의 불소 투여는 골모세포를 파괴하고 활동을 억제한다는 것을 확인하였다.

FIGURE LEGENDS

- Fig. 1.** Photomicrograph of tibia of control rat showing osteoblasts (Ob) lining and bone marrow (Bm). $\times 100$
- Fig. 2.** Electronmicrograph of osteoblast of control rat tibia. GC: Golgi complex, M: mitochondria, Circle: tight junction, Arrowhead: gap junction, N: nucleus, Scale bar = $1 \mu\text{m}$
- Fig. 3.** Photomicrograph of tibia of 100 ppm fluoride-treated rat showing reversal line and osteoblast (Ob). $\times 100$
- Fig. 4.** Electronmicrograph of distal portion of 100 ppm fluoride-treated rat tibia. The reversal line (arrowhead) separated bone matrix from osteoid (O). The activating osteoblast contained many secretory vesicles (arrow) and well developed rough endoplasmic reticulum. CP: cytoplasmic process, Scale bar = 500 nm
- Fig. 5.** Distal portion of tibia of 200 ppm fluoride-treated rat showing irregular simple layer of osteoblasts (Ob). $\times 100$
- Fig. 6.** Part of osteoblast in tibia after 200 ppm fluoride-treated showing swollen mitochondria (M). B: bone matrix, N: nucleus, Scale bar = 500 nm
- Fig. 7.** Photomicrograph of distal tibia of 300 ppm fluoride-treated rat. Note scanty of osteoblast (Ob) lining. $\times 100$
- Fig. 8.** Electronmicrograph of osteoblast of 300 ppm fluoride-treated rat showing detached cells and irregular nuclear membrane. N: nucleus, Scale bar = $1 \mu\text{m}$



