

방사선조사가 흰쥐의 치아발생에 미치는 영향에 관한 형태학적 연구

이주환, 한승로, 김수일, 조근자, 조문준¹, 김원식

충남대학교 의과대학 해부학교실, ¹치료방사선과학교실

간추림 : 저자는 흰쥐 태아의 위턱 앞니 발생과정과 그에 미치는 방사선의 영향을 경시적으로 형태학적 변화를 통해 알아보고 그 작용기전의 일부를 알아보기 위하여, Sprague-Dawley계통 흰쥐를 임신시킨 후 발생 12.7일에 4 Gy의 방사선을 단회 조사하고 발생 13.5일부터 발생 20.5일까지 매일 태아를 적출하여 광학 및 전자현미경적 관찰을 실시하였다. 본 실험 결과, 정상 치아발생과정은 발생 13.5~15.5일은 싹시기, 발생 16.5~17.5일은 모자시기, 발생 18.5~20.5일은 종시기였고, 발생 12.7일에 방사선을 조사한 바 치아발생과정은 발생 13.5~17.5일은 싹시기, 발생 18.5일은 모자시기, 발생 19.5~20.5일은 종시기로 특히 싹시기가 현저하게 지연되었으며, 형태학적으로는 발생 13.5일부터 치아싹과 주위 중간엽세포들에 방사선에 의해 유도된 세포자멸사가 일어나 발생 16.5일까지 지속되었으며, 그 이후에는 치수에서 출혈성괴사가 관찰되었다. 이상의 결과로 볼 때, 이온화방사선은, 2가지 기전, 첫째는 치아싹을 이루는 세포들에 손상을 입혀 치아싹으로부터 그 아래에 있는 중간엽으로 가는 정보량에 부족을 초래하여 발생의 지연 및 기형을 초래하는 기전과, 둘째는 치아싹주위 중간엽세포들에 손상을 입혀 그들로부터 형성되는 내피세포들의 부족을 초래하여 혈관신생부전이나 출혈 등으로 출혈성괴사를 일으키는 기전으로 치아 무발생 또는 치아 형성부전을 초래하는 것으로 생각된다.

찾아보기 낱말 : 치아발생, 방사선조사, 기형형성

서 론

치아발생은 첫 형태학적 징후인 상피의 국소적 비후에서부터 시작하여, 상피싹을 형성하고 싹 주위에 중간엽세포 밀집을 일으킨 후, 모자시기가 되면, 상피가 접히면서 아래면이 함입되고 중배엽성 치아 유두가 형성되며, 종시기가 진전되면, 중배엽성 치아 모세포들과 상피성 사기질모세포들이 조직 맞은 편에서 최종 분화하고, 각각 상아질과 사기질이라는 유기질성 기질을 축적시키는 과정을 거쳐 발생된다. 이와같은 과정중에는 다른 기관들의 발생에서와 마찬가지로 상호작용하는 조직들간에 수많은 대화가 일어나는데, 이는 상피-중간엽 상호작용으로 중간엽

은 상피에 영향을 주고, 중간엽에 의해 일단 변화가 일어난 상피조직은 다시 중간엽을 바꾸는 인자들을 분비하는 방식으로, 치아발생에서 여기에 속하는 분자들에는, TGF β (transforming growth factor β), FGF (fibroblast growth factor), EGF (epidermal growth factor), HGF (hepatocyte growth factor), GDNF (glial cell derived neurotrophic factor), heparin-binding growth-associated molecule인 MK (midkine), Shh (sonic hedgehog) 등이 발생의 서로 다른 단계에서 치아상피로부터 발현된다고 보고하고 있다 (Gilbert 1997). 따라서 치아발생단계의 어느 시기에 기형유발물질에 노출되면 그 물질의 작용에 의해 해당 시기에 특이하게 분비되는 분자들의 양과 질에 영향이 미칠 것이고 그로 인해 상피와 중간엽사이의 상호작용에 혼란이 일어나 기형이 초래될 것이 예상된다.

교신저자: 김원식 (충남대학교 의과대학 해부학교실)
전자우편: wonsikk@cnu.ac.kr

대표적인 기형유발인자중의 하나인 방사선은, 세포를 구성하고 있는 원자들과 상호작용하여 DNA의 나선구조를 절단하고 또한 물과 결합하여 물분자의 결합을 끊어 그 산물이 과산화수소와 같은 독성화합물을 형성하여 이 물질이 세포의 기능상실을 일으켜 장기의 기능이상을 초래하고, 암발생 (Hicks와 D'Amato 1966) 및 기형형성과 변이 (Ritenour 1986) 를 일으키기 때문에 많은 사람들에 의해 다방면으로 연구되어 오고 있다. 특히 발생과 관련하여 포유동물 태아가 이온화 방사선에 노출되면 자궁내사망, 출생 후사망, 못발가락증 또는 거대발가락증, 꼬리기형, 난장이증, 입천장갈림증, 뇌노출증, 전신부종 등과 사람에서는 성장지연, 작은머리증, 작은눈증등의 선천성 기형 및 발육장애 (Brent 1980, Hoffman 등 1981, Ritenour 1986, United Nations 1986, Solomom 등 1994, Shiyuki 등 1996, Gilbert 1997) 등이 나타난다고 한다.

이와 같이 방사선에 의한 기형형성과 관련된 연구는 다수 보고 되어 있으나, 발생중인 치아조직에 미치는 영향에 관한 보고는 매우 희소한 실정이다. 일부 연구에서, 방사선을 발생중인 치아조직에 조사한 바, 치아모세포들의 와해, 비전형적인 상아질 형성 (Smith 1931), 상아질속 함요형성, 발생중인 치아모세포의 퇴화, 뼈상아질 형성 및 상아질-사기질 결합부에 불규칙한 흡집형성 (Adkins 1967) 등이 유발되었고, ^{32}P 를 임신한 쥐에게 임신 마지막 수일간 투여한 바 첫 번째와 두 번째 어금니의 정상적 분화가 방해를 받았고 셋째 어금니는 완전히 억제되었으며 (Burston 1951), 햄스터 자궁에 70 R의 이온화 방사선을 노출시킨 바 기형적인 치아발생이 있었다는 보고 (Piekos 1969) 등이 있지만, 치아형성조직에 미치는 영향에 관한 연구는 많지 않다. 또한 이들 기형의 발생기전에 관해서도 방사선이 뇌속 원시중식세포들과 이동세포들의 교란, 조혈조직내 과립구기원세포들의 파괴 및 림프모양세포들과 중간엽세포들의 급성괴사 유발 (Rugh 1962), 세포치사와 유사분열의 지연, 세포이동의 와해, 거대분자구조의 변형 등 3가지 기전으로 태아에 작용한다는 보고 (Brent 1980) 등과 방사선에 의한 염색체 이상 및 변이 (Russell와 Saylor 1963), 출생 후에 나타나는 영향 (Brent 1970),

생식에 미치는 영향 (Rugh 1964) 등의 관련 연구들이 행해져 오고 있으나 아직 미흡한 점이 많이 있다.

특히 기형형성의 역동성을 고려할 때 방사선에 의한 변화도, 각 실험동물의 종에 따라 다르고 동일 종 내에서도 노출의 조건 즉 방사선의 질, 여과, 총 노출량, 노출율, 노출횟수와 빈도, 노출된 조직의 양, 발생중인 치아조직의 상대적 방사선 감수성 등에 의해 그 변화의 결과가 다를 것이며 (Adkins 1967) 조사후 경과시간, 계속 관찰시 시간간격 등이 큰 의미를 가지며 시간간격이 짧을수록 세포학적 정보를 많이 얻을 수 있을 것 (Hansen와 English 1957) 임에도, 대부분의 연구가 장기간에 걸친 변화들을 관찰한 것들로서 (Gartner 등 1977) 방사선의 작용기전을 밝히는 데는 부족한 실정이다.

이에 착안하여 저자는 흰쥐 태아에서 앞니 발생 과정에 미치는 방사선의 영향을 경시적 형태학적으로 관찰하고 이를 토대로 방사선이 발생중인 흰쥐 앞니에 작용하는 기전의 일부를 알아보기 위하여 본 연구를 실시하게 되었다.

재료 및 방법

1. 실험동물

본 실험에 사용한 실험동물은 흰쥐 (Sprague-Dawley계통)로서, 대전 소재 한국화학연구소에서 생후 4주령의 암컷 200마리와 수컷 40마리를 구입하여 본 대학 동물 사육사에서 온도 $20 \pm 2^\circ\text{C}$, 습도 $60 \pm 10\%$ 에서 12시간 명암 교대하면서 일반식이(삼양사료주식회사 제품)와 충분한 양의 수돗물을 공급하면서 체중이 약 $200 \pm 20\text{g}$ 정도가 되도록 사육하였다. 이들 흰쥐는 임신을 위하여 저녁 7시부터 10시경까지 암수 한 마리씩 합사하고 교미를 확인한 후 다음날 아침 8시에 분리하고 암컷의 질전을 확인하고 이날을 발생 0일로 정하였다. 대조군은 방사선을 조사하지 않은 군으로 하였으며 실험군은 방사선을 발생 12.7일에 조사한 군으로 하였다.

2. 방사선조사

본 실험을 위한 예비실험에서, 흰쥐에서 위턱 앞니의 정상발생을 알아보기 위해 발생실험을 실시한 바, 치아판에서 치아썩이 형성되는 시기가 발생 12 일임을 확인하고, 본 실험실의 여건에 맞춰 12.7일에 polyurethane box에 넣어서 충남대학교병원 치료 방사선과에서 방사선을 전신조사하였다. 이때 사용된 방사선의 종류는 6MV-X (Mevatron 67, Siemens, Germany)를 사용하였으며 조사야는 7×7 cm, SSD (source-surface-distance) 100 cm 거리에서 흰쥐 전신을 위와 아래에서 각각 조사하였으며 선량률은 200 rad/min이며 secondary dose 103 rad, primary dose 93 rad로 하였다. 6MV-X선은 피하 1.5 cm 깊이에서 최대선량 (build-up)이 형성되므로 태아에게 최대선량이 균일하게 조사되도록 하였다. 방사선량의 결정은 여러 문헌 (Smith 1931, Adkins 1967, Gartner 등 1977)을 참고하여 수차례의 예비실험을 통해 발생중인 치아원기에 적절한 영향을 미치면서 태아 치사율이 가장 낮은 선량인 4 Gy로 정하였다.

3. 광학현미경적 방법

대조군과 실험군은 발생 13.5, 14.5, 15.5, 16.5, 17.5, 18.5, 19.5, 20.5일에 각각 6마리씩 ether마취 후 개복하고 자궁 전체를 절제해 생리식염수를 담은 petri dish에 넣고 임신주머니와 생존 태아의 수를 계수하고, 생존태아를 적출하여 체표면의 물기를 제거한 후 체중을 계측하였으며, 이어 입체현미경하에서 외부 선천성기형을 관찰하였다.

이후 일부 태아는 머리부위를 절단하여 광학현미경 관찰을 위해 10% 중성 포르마린용액 (neutral formalin buffer)에 고정하고 일부 태아는 머리부위를 2.5% glutaraldehyde에 고정하였다. 10% 중성 포르마린 용액에 고정된 조직은 위턱앞니를 지나는 머리의 연속시상절편을 시행한 후 이중 가장 정중면에 가까운 단면을 취하고, 통상적인 방법으로 H & E 염색을 실시한 후 광학현미경 (Nikon, Japan)하에서 대조군과 실험군의 형태학적 변화를 비교하였다.

4. 투과전자현미경적 방법

적출된 태아의 머리를 2.5% glutaraldehyde (in 0.1 M phosphate buffer, pH 7.4, 4°C)에 약 2시간 정도 담가서 전고정한 후 1 mm³의 크기로 세절하였다. 세절된 조직을 0.1 M phosphate buffer (pH 7.4)에 세척한 후 2% osmium tetroxide (in 0.1 M phosphate buffer, pH 7.4, 4°C)에서 1시간 동안 진탕하면서 후고정하였다. 고정된 조직은 4°C의 50, 70, 80, 90, 95% ethanol, 실온의 100% ethanol을 이용하여 점진적으로 탈수하고 propylene oxide로 치환시켰다. 포매는 epon 812를 사용하였고 경화제로는 dodecynyl succinic anhydride (DDSA)와 methyl nadic anhydride (MNA)를 사용하였고 가속제로서는 2, 4, 6-dimethylaminomethyl phenol (DMP-30)을 사용하였다. 포매조작은 탈수와 치환이 끝난 후 propylene oxide : epon mixture가 1 : 1, 1 : 2, absolute epon mixture가 되도록 하여 각각 단계적으로 침투시켰다. 이와 같은 조작이 끝난 후 시료를 epon에 포매하고 항온기에 넣어 37°C에서 12시간, 45°C에서 12시간 그리고 60°C에서 48시간 동안 중합시켰다.

초박절편기 (MTXL ultramicrotome, RMC, USA)를 사용하여 1 μm 두께의 준초박절편 (semithin section)을 제작한 후 toluidine blue 염색을 하여 광학현미경으로 확인한 후, 적당한 부위를 택하여 60~80 nm 두께의 초박절편 (ultrathin section)을 만들고 uranyl acetate와 lead citrate로 이중염색하여 투과전자현미경 (Hitachi H600, Japan)으로 관찰하였다.

결 과

1. 방사선 조사후 임신주머니, 태아생존율 및 태아체중의 변화

방사선을 발생 12.7일에 조사하고 발생 13.5일부터 20.5일까지 매일 임신취를 희생시켜 임신주머니의 수와 살아있는 태아의 수를 계수한 바, 실험기간 중 임신주머니의 수는 대조군과 방사선 조사군 모두에서 평균 13~14개였으나 태아생존율은 대조군은 100%였으나 방사선 조사군은 75.0~85.0%로 나

타났으며 일령에 따른 생존율의 변화에 일정한 흐름은 없었다(Table 1).

한편 태아체중의 변화를 보면, 대조군과 방사선 조사군에서 발생 13.5일에는 각각 75.00 ± 0.58 mg, 45.80 ± 0.85 mg 이었고, 발생 14.5일에는 각각 148.29 ± 1.08 mg과 112.40 ± 1.21 mg 이었으며, 발생 15.5일에는 각각 261.13 ± 2.68 mg과 202.30 ± 1.51 mg, 발생 16.5일에는 각각 432.79 ± 1.02 mg과 342.97 ± 1.99 mg, 발생 17.5일에는 각각 795.52 ± 1.21 mg과 544.25 ± 1.83 mg, 발생 18.5일에는 각각 1495.58 ± 1.52 mg과 708.33 ± 4.32 mg, 발생 19.5일에는 각각 2208.31 ± 5.49 mg과 1010.30 ± 5.43 mg, 발생 20.5일에는 각각 3512.36 ± 4.30 mg과 1310.07 ± 5.45 mg으로, 모든 일령에서 대조군에 비해 방사선 조사군 태아의 체중이 유의하게 ($p < 0.01$) 감소하였다(Table 2).

2. 형태학적 변화

발생 13.5일의 대조군에서는 치아관이 두터워지면서 치아뿌를 형성하기 시작하였으며, 치아뿌의 표면은 3~4층의 편평한 세포들로 구성된 덮개세포층

이 있고 그 아래 기저막 위에 2~3층의 키가 큰 원주세포들로 된 치아뿌 고유부로 구성되어 있었다. 치아뿌 기저막 바로 아래에는 중간엽세포들이 주위에 집결된 것을 관찰할 수 있었다. 한편 방사선 조사군에서는 치아뿌의 덮개상피가 2~3층으로 대조군에 비해 1층 정도 얇았으며 기저막위의 세포들도 좀 더 입방형을 보였고 전체적으로 대조군에 비해 두께가 얇았다.

발생 14.5일에는, 대조군에서는 치아뿌이 아래의 중간엽쪽으로 좀 더 자라내려 가고 덮개상피와 치아뿌 고유부가 형성한 치아기관이 구별되기 시작하였고 그 둘 사이에 공간이 형성되었다. 일부에서는 덮개상피세포들이 치아기관속으로 계속 증식되어 들어가는 모습이 관찰되었다. 치아뿌 기저막에는 입방세포들과 원주세포들이 평행하게 배열되어 있었으며 투과전자현미경상 기저막쪽으로 더 많은 사립체들이 밀집되어 있음을 관찰할 수 있었다. 아울러 치아뿌 주위의 중간엽세포들이 치아뿌 기저막주위로 계속 집결하고 있었다. 반면에 방사선 조사군에서는 대조군에 비해 치아뿌이 작고 덜 분화되었으며 표면상피와 치아기관 사이에 공간형성도 관찰되

Table 1. Number of pregnant sacs and survival rate of control and X-ray irradiated groups

GD	Group	Dams	Pregnant sacs	Live fetuses	Survival rate (%)
13.5	Control	3	42	42	100.0
	Exp.	3	40	30	75.0
14.5	Control	3	42	42	100.0
	Exp.	3	41	32	78.0
15.5	Control	3	40	40	100.0
	Exp.	3	42	34	80.9
16.5	Control	3	40	40	100.0
	Exp.	3	40	34	85.0
17.5	Control	3	42	42	100.0
	Exp.	3	40	32	80.0
18.5	Control	3	42	42	100.0
	Exp.	3	42	32	76.2
19.5	Control	3	41	41	100.0
	Exp.	3	40	33	82.5
20.5	Control	3	41	41	100.0
	Exp.	3	42	34	80.9

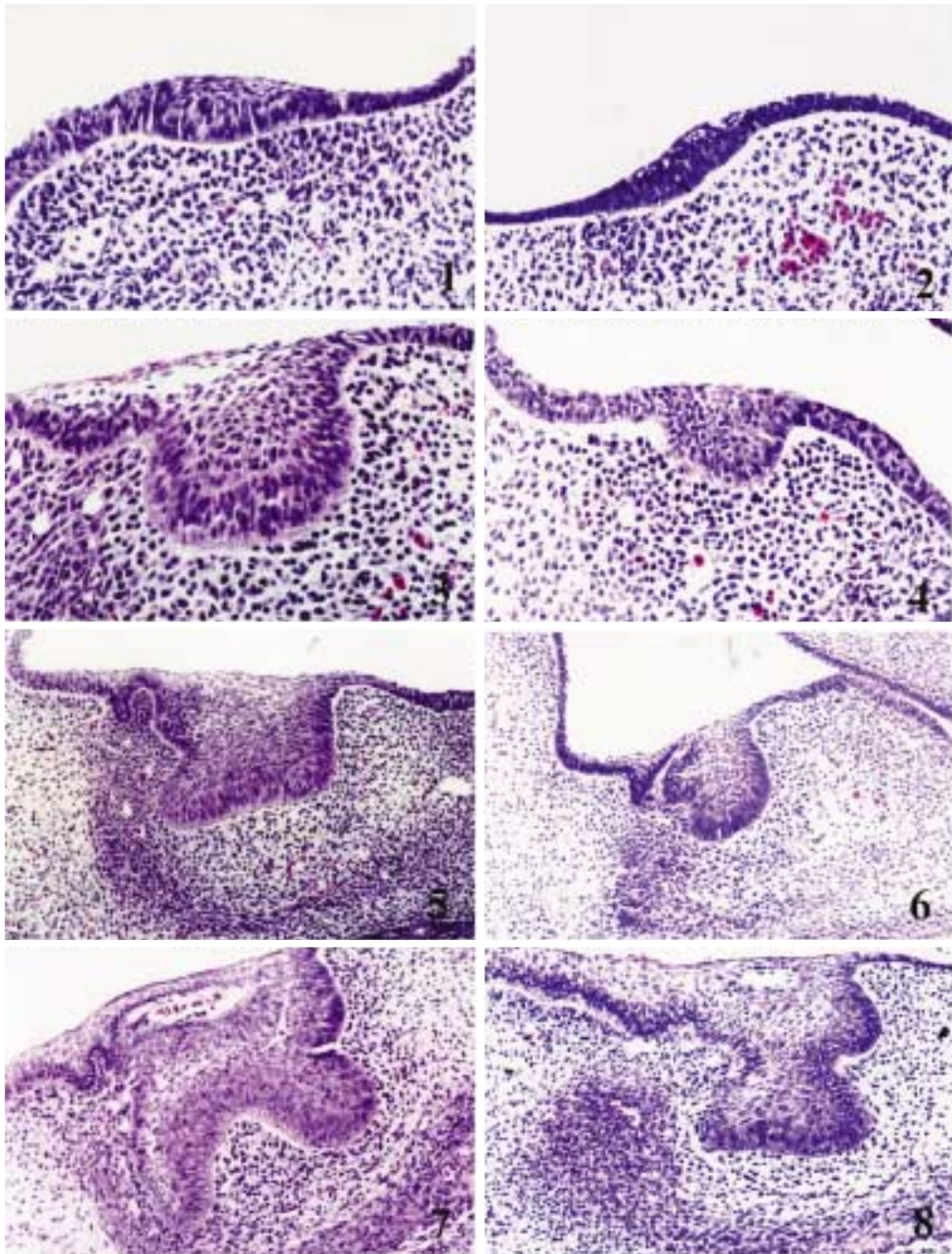
Exp: experimental group; GD: gestation day

Table 2. Changes of body weight after X-irradiation on GD 12.7

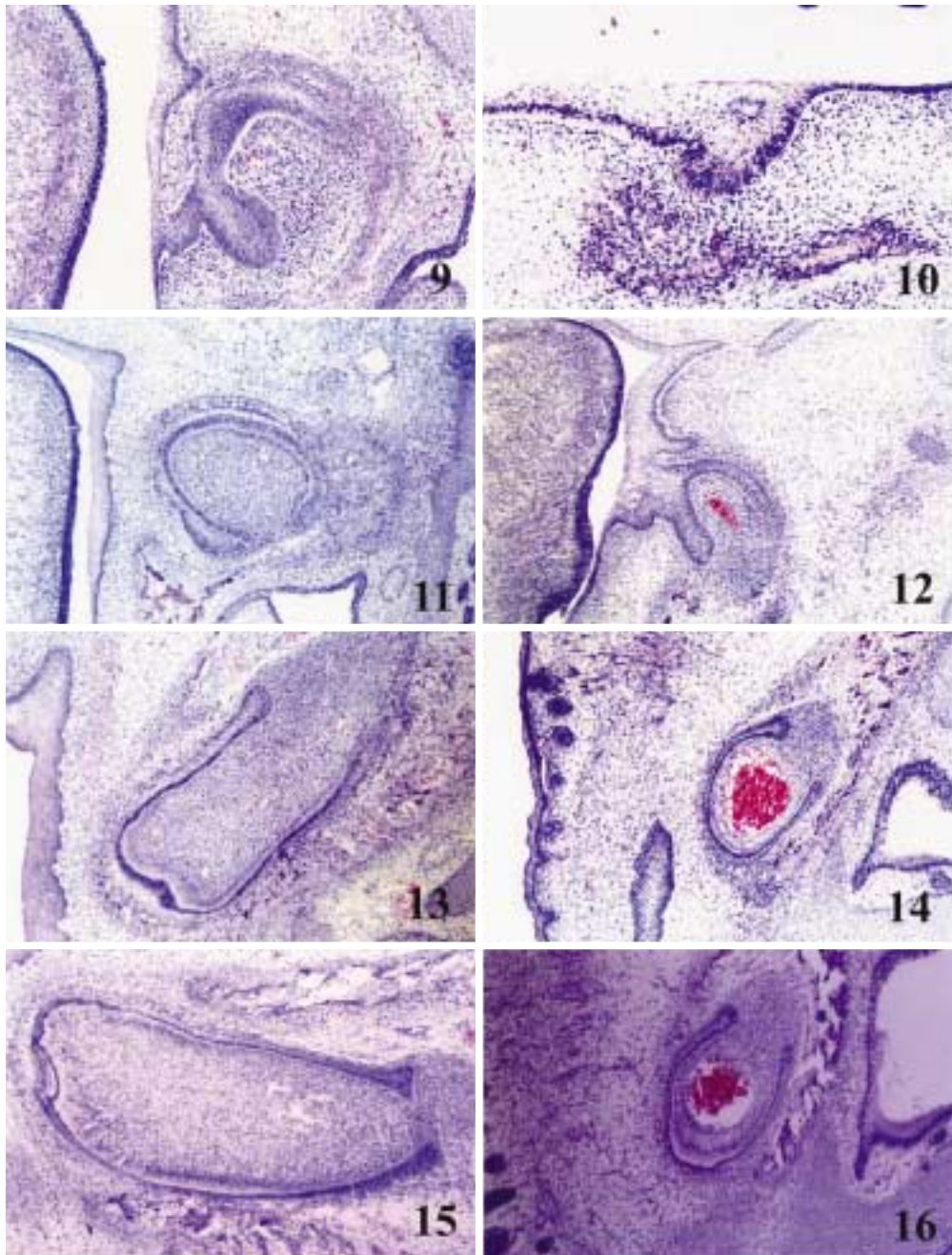
GD	Group	Dams	Live fetuses	Weight (M \pm SD, mg)
13.5	Control	3	42	75.00 ± 0.58
	Exp.	3	30	$45.80 \pm 0.85^*$
14.5	Control	3	42	148.29 ± 1.08
	Exp.	3	32	$112.40 \pm 1.21^*$
15.5	Control	3	40	261.13 ± 2.68
	Exp.	3	34	202.30 ± 1.51
16.5	Control	3	40	432.79 ± 1.02
	Exp.	3	34	$342.97 \pm 1.99^*$
17.5	Control	3	42	795.52 ± 1.21
	Exp.	3	32	$544.25 \pm 1.83^*$
18.5	Control	3	42	1495.58 ± 1.52
	Exp.	3	32	$708.33 \pm 4.32^*$
19.5	Control	3	41	2208.31 ± 5.49
	Exp.	3	33	$1010.30 \pm 5.43^*$
20.5	Control	3	41	3512.36 ± 4.30
	Exp.	3	34	$1310.07 \pm 5.45^*$

*: significantly different from control group ($p < 0.01$)

Exp: experimental group; GD: gestation day



Figs. 1-8. Light micrographs developing upper incisor tooth of rat fetus. (1) Dental lamina on GD 13.5 of control group. (2) Dental lamina on GD 13.5 of X-irradiated group. (3) Bud stage on GD 14.5 of control group. (4) Bud stage of X-irradiated group. H & E, $\times 200$. (5) Advanced bud stage on GD 15.5 of control group. (6) Bud stage on GD 15.5 of X-irradiated group. (7) Cap stage on GD 16.5 of control group. (8) Bud stage on GD 16.5 of X-irradiated group. H & E, $\times 100$.



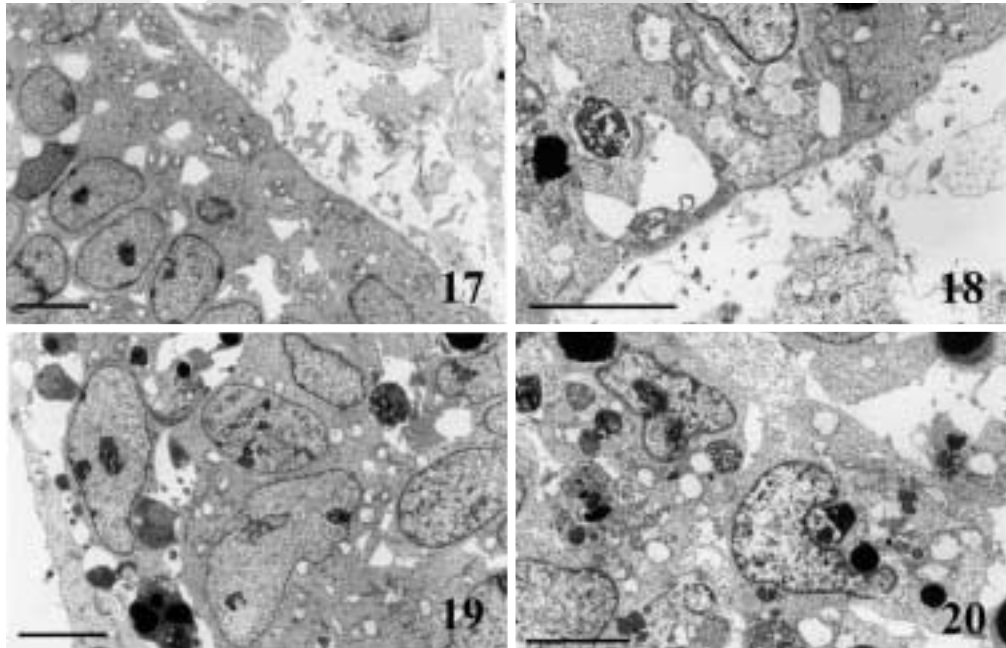
Figs. 9–16. Light micrographs of developing upper incisor tooth of rat fetus. (9) Advanced cap stage on GD 17.5 of control group. (10) Bud stage on GD 17.5 of X-irradiated group. H & E, $\times 100$. (11) Bell stage on GD 18.5 of control group. (12) Cap stage on GD 18.5 of X-irradiated group. (13) Bell stage on GD 19.5 of control group. (14) Bell stage on GD 19.5 of X-irradiated group. Hemorrhagic necrosis at the dental papilla is observed. (15) Advanced bell stage on GD 20.5 of control group. (16) Cap stage on GD 20.5 of X-irradiated group. Hemorrhagic necrosis at the dental papilla is observed and further development ceased. H & E, $\times 40$.

지 않았다. 기저막에 인접한 세포들은 주로 입방형이고 키가 큰 원주형세포들이 적어 분화가 지연되고 있음을 나타냈다. 실제로 투과전자현미경으로 관찰한 바, 치아쌍의 덮개상피와 치아기관 모두와 치아쌍 아래의 중간엽세포들에서도 발생 12.7일에 조사한 방사선에 기인한 것으로 보이는 많은 수의 세포자멸사체가 발견되어, 정상적인 분화와 증식에 필요한 세포 수가 부족함을 보여주었다.

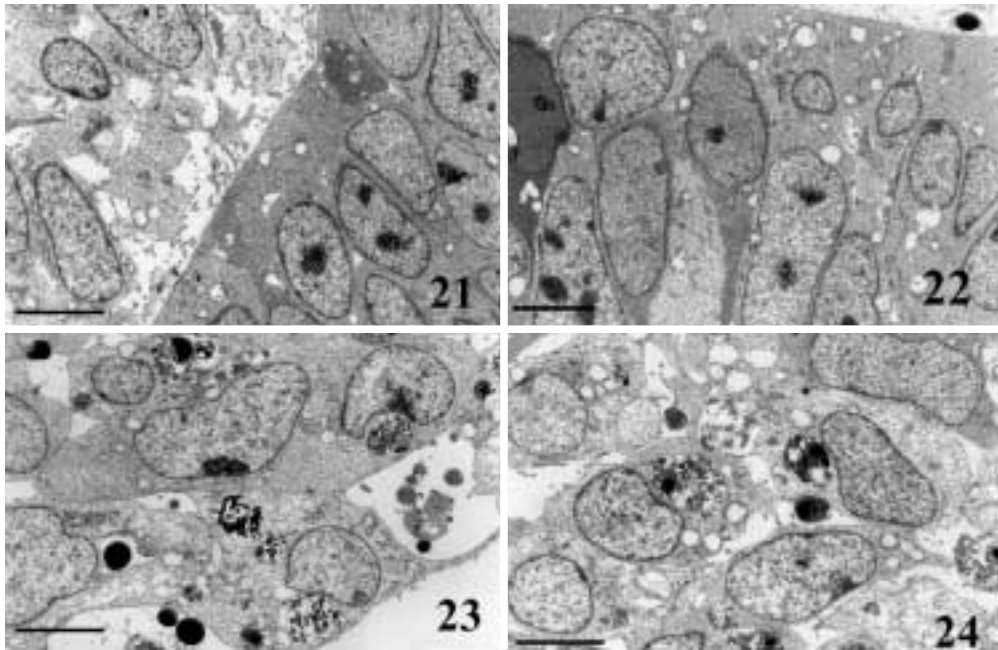
발생 15.5일에는, 대조군에서는 치아쌍이 많이 진전된 상태로, 치아쌍에 3개의 세포층이 형성되었다. 가장 바깥에 있는 덮개상피세포들에서는 다수의 생리적 세포자멸사체들이 나타나고 있으며 기저막 부위에는 발생 14.5일에서보다 키가 더 큰 원주세포층을 이루고 있었으며 둘 사이의 치아쌍 내부에는 평행하게 배열된 납작한 세포들이 관찰되었다. 치아쌍 주위에는 치아주머니와 치수를 형성할 중간엽세포들의 밀집이 더욱 현저해 졌다. 반면, 방사선 조사

군은 치아쌍을 이루고 있는 세포수가 대조군에 비해 적고, 기저막 부위의 세포들이 낮은 원주-입방형으로 썩시기의 진전이 지연되고 있었으며, 일부에서는 치아쌍의 형태이상과 발생부전이 관찰되었고, 방사선 조사에 기인한 것으로 보이는 세포자멸사가 표면상피, 치아쌍 기저부 및 치아쌍주위 중간엽세포들에서 관찰되었다.

발생 16.5일에는, 대조군에서는 모자시기로 덮개상피와 치아기관의 분리를 의미하는 공간이 생리적 세포자멸사에 의해 형성되고 그 속으로 중간엽이 채워져 혈관의 형성 등이 관찰되었으며, 덮개상피와 치아기관을 연결하는 치아끈(dental strand)이 형성 중에 있었으며, 치아기관에서는 바깥사기질상피, 별그물(stellate reticulum), 불분명한 중간층(stratum intermedium), 속사기질상피가 관찰되었고 치수가 형성되었으며, 이들을 둘러싸고 있는 치아주머니가 윤곽을 드러냈다. 투과전자현미경상에서는 치아기관



Figs. 17-20. TEM photographs of bud stage incisor tooth of rat fetus on GD 14.5. (17) Control group; cuboidal and more or less columnar cells containing many mitochondria are attached at the basement membrane of tooth bud. Wide gaps filled up with extracellular matrix are observed under the basement membrane. (18-20) X-irradiated group; apoptotic bodies at the columnar cells on basement membrane (18), at the surface covering cells and bud cells (19), and at the mesenchymal cells underlying tooth bud (20) are observed. bar = 5 μ m.

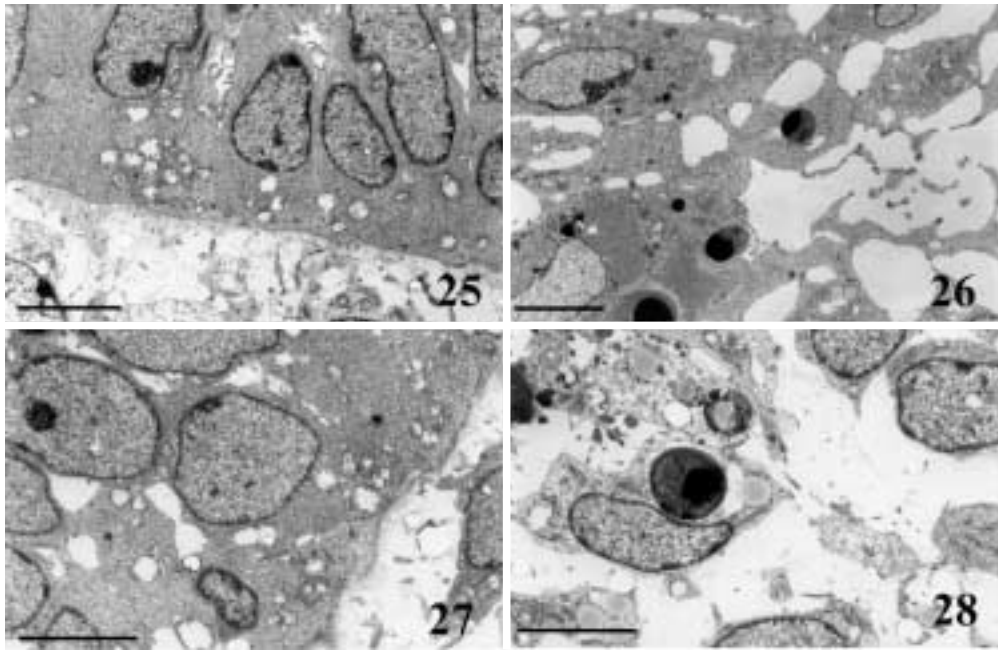


Figs. 21–24. TEM photographs of bud stage incisor tooth of rat fetus on GD 15.5. (21) Control group; columno-cuboidal cells on the basement membrane and underlying widened gaps filled up with abundant extracellular matrix were observed. (22–24) X-irradiated group; an electron-dense cell on the basement membrane (22), many apoptotic cells at the surface covering cells (23), and at the undrlying mesenchymal cells (24) are observed. bar = 5 μ m.

기저막에 위치한 속사기질상피세포들로 생각되는 큰 원주세포들에서 크고 많은 수의 사립체들이 나타났고 치아기관과 치수사이에는 세포사이기질로 채워진 세포가 없는 구역이 나타났다. 반면, 방사선 조사군은 아직도 치아썩시기로 남아있으나, 덮개상피와 치아기관의 분리를 위한 공간은 나타났고 덮개상피세포들의 분화는 계속되고 있어 치아기관과 덮개상피의 경계에 이상발생이 관찰되었으며, 발생 15.5일의 대조군에서 볼 수 있는 납작하고 평행한 세포들이 다수 출현하여 발생이 지연되고 있음을 의미하였다. 투과전자현미경상에서는 치아썩에서 세포자멸사가 관찰되지 않아 방사선의 치아썩세포 손상효과는 사라진 것으로 보였으나, 중간엽세포들에서는 여전히 세포자멸사가 나타나 그 영향이 지속되고 있음을 나타냈다.

발생 17.5일에는, 대조군은 진행된 모자시기로서

치아기관이 치아끈에 의해 덮개상피와 연결되고, 치아기관에서는 바깥 및 속사기질상피와 별그물은 뚜렷했으나 중간층은 아직 불분명했으며, 치수와 치아주머니의 발달이 발생 16.5일에 비해 더욱 현저해졌고, 치아목고리(cervical loop)에서는 일부 치수로부터 치아모세포들이 유도되기 시작하였다. 투과전자현미경상에서는 치아기관 기저막부위에서 많은 사립체들을 함유하고 있는 키가 큰 원주세포들인 속사기질세포들이 관찰되었다. 그러나 방사선 조사군은 아직도 매우 지연된 썩시기로써 덮개상피와 치아기관사이의 공간은 나타났으나 더 이상의 성장과 분화는 관찰되지 않았으며, 덮개상피, 치아기관 및 중간엽세포들 어느 곳에서도 세포자멸사는 발견되지 않고, 치아썩 기저막부위세포들에서 사립체의 수가 감소되고 세포내에 공포들이 출현하였으며 가쪽세포사이공간이 커지고 그 수도 많아졌으며 중간



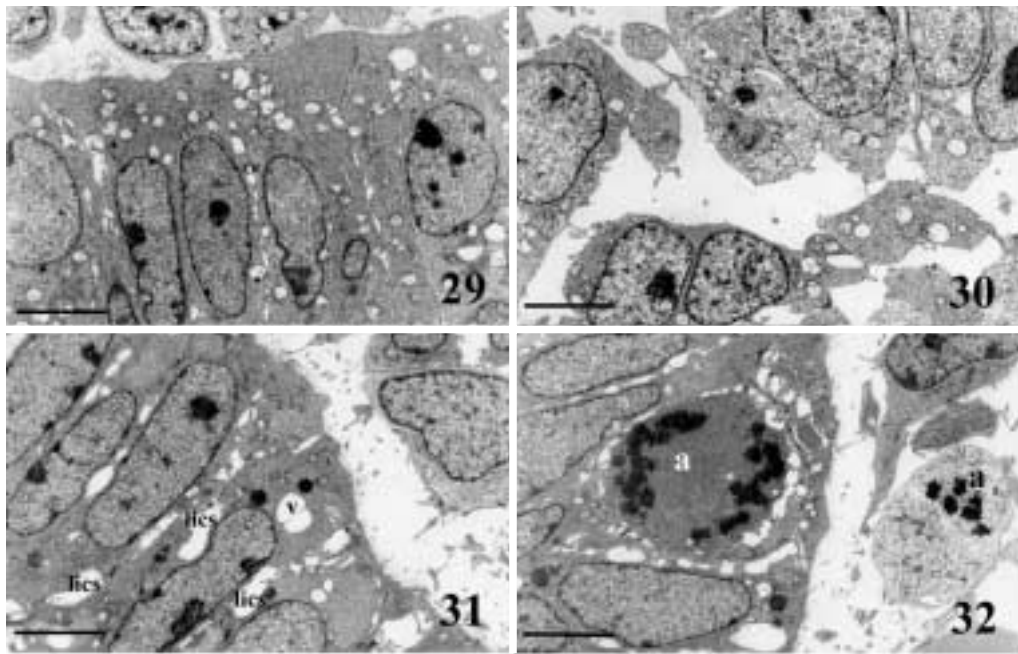
Figs. 25–28. TEM photographs of cap stage incisor tooth of rat fetus on GD 16.5. (25) Control group; columnar-cuboidal cells with many mitochondria on the basement membrane and underlying widened gaps filled up with abundant extracellular matrix are observed. (26) Control group; apoptotic bodies at the space between the covering epithelium and tooth bud proper are observed. (27, 28) X-irradiated group; no apoptotic body at the basement membrane (27) and apoptotic bodies and vacuoles within the mesenchymal cells are observed (28). bar = 5 μ m.

엽세포들에서도 마찬가지로의 변화가 나타나 허혈성 괴사(ischemic necrosis)의 변화를 보였다. 이는 광학 현미경하에서는 관찰되지 않았으나 발생 12.7일에 조사된 방사선의 영향으로 혈관으로 발생될 중간엽 세포들에 손상을 주어 출혈성괴사가 일어났음을 의미하였다.

발생 18.5일에는, 대조군은 치아기관과 덧개상피가 완전히 분리된 모자시기로 접어들어 본격적인 조직분화가 일어나기 시작되었다. 치아기관은 바깥사기질상피와 별그물층, 중간층 및 속사기질기관 등 4층이 뚜렷이 구별되고, 사기질모세포에 의한 치아모세포의 유도가 왕성하게 일어났으며 일부에서는 상아질의 형성이 관찰되었다. 치수의 형성과 치주인대를 형성할 치아주머니의 발달이 현저해졌다. 그러나 방사선 조사군은 비로소 싹시기에서 모자시기로 이행되었으며 그중 일부는 중시기로도 이행되는 것

이 관찰되기도 하였으며, 치수속에서는 출혈성괴사가 관찰되었다.

발생 19.5일에는, 대조군에서는 진행된 중시기로 치아기관이 잇몸쪽을 향해 길어지기 시작했으며 사기질형성이 시작되는 것을 관찰할 수 있었다. 치아기관 주위에서는 치아주머니의 중간엽세포들이 집결되면서 치조 및 치아주위구조물들이 형성되기 시작하였고, 바깥사기질상피 주위에는 많은 혈관들이 관찰되었다. 반면, 방사선 조사군에서는 치수속에서 출혈성괴사가 더욱 커지면서 모자시기 또는 중시기로 접어든 후 더 이상의 치아발생이 진전되지 않았다. 발생 20.5일까지 관찰해 보았으나 대조군은 상아질과 사기질 생산을 계속하면서 길어졌으나 방사선 조사군에서는 치아발생이 정지되었음이 관찰되었다.



Figs. 29, 30. TEM photographs of advanced cap stage incisor tooth of rat fetus on GD 17.5 of control group. Tall columnar cells with abundant mitochondria at the basement membrane (29) and mesenchymal cells with many mitochondria (30) are observed. bar = 5 μ m.

Figs. 31, 32. TEM photographs of advanced cap stage incisor tooth of rat fetus on GD 17.5 of X-irradiated group. Vacuoles in the columnar cells and widening of lateral intercellular spaces (31), and apoptosis of a columnar cell and a mesenchymal cell (32) are observed. lics; lateral intercellular space, v: vacuole, a: apoptotic body. bar = 5 μ m.

고찰

이온화 방사선이 출생전의 치아발생요소들에 미치는 효과에 관해서는 잘 알려져 있지 않다. 햄스터에서 치아모세포의 불규칙배열, 치수혈관의 이완, 치수의 섬유화, 치아 구성요소들의 발생지연, 상아질의 과소발생, 사기질의 완전결손, 치아발생의 지연 등이 관찰되었고 (Piekos 1969), 상아질 함양, 뼈상아질형성 (Bily와 Sosha 1964), 치수혈관의 이완, 섬유화 및 초자화 (Bily와 Sosha 1964, Horn 등 1975), 손상되고 방향성을 잃은 치아모세포들 (Koppang 1973), 사기질 모세포들의 키의 감소와 극성의 흐트러짐 (Bily와 Sosha 1964), 치아직경과 길이의 감소 (Hansen와 English 1957) 등과 동시에 일부에서는 기형이 없는

것들도 있었다는 보고 (Piekos 1969) 등이 있다. 그러나 이들 대부분의 연구가 방사선을 조사하고 일정기간 경과후의 변화를 육안적 또는 광학현미경적으로 관찰한 연구들로서 발생과정의 진행에 따른 경시적인 역동적인 변화를 알 수 없고, 미세구조의 변화를 간과하여 그 작용기전을 추론하기가 매우 힘든 상황에서 본 연구를 실시한 것은 의미가 있다고 생각한다.

우선 치아발생 시기를 볼 때, 본 실험에서 사용한 흰쥐에서 위턱앞니는 정상적으로 발생 12일에 개시됨을 알 수 있었다. 발생과정은 다른 종의 동물에서와 같이 (Ten Cate 1998, Berkowitz 등 2002) 처음에는 입안상피에 형성된 치아판이 치아가 발생될 부위에서 두터워지기 시작하여 발생 13.5일에는 치아 짝을 형성하였고, 발생 16.5일에는 치아짝의 꼭대기

가 함몰되어 모자시기가 되면서 중간엽세포들이 치아유두를 형성하였으며, 발생 18.5일에는 종시기에 접어들었고 이 후에는 치아가 길어지면서 잇몸상피 쪽을 향해 자라났다 (Ten Cate 1998, Berkowitz 등 2002). 그러나 방사선 조사군에서는, 싹시기가 발생 17.5일까지 지연되고 발생 18.5일에 짧은 모자시기를 지나 발생 19.5일에는 미분화된 종시기에 이르렀으며 발생 19.5일 이후에는 발생이 중지됨을 관찰할 수 있었다. 정상적으로 치아발생은 치아발생부위의 결정, 치아종류의 결정, 이행시기, 치아모양의 결정시기 등의 단계를 거치는데, 본 연구는 치아발생부위와 치아종류의 결정은 이미 끝난 시점인 이행시기 즉 치아싹 개시시기인 발생 12.7일에 실험을 실시함으로써, 치아싹시기의 지연이라는 특징적 변화를 관찰할 수 있었는데 (Jervall와 Thesleff 2000), 이러한 결과는 햄스터에 이온화 방사선을 조사한 바 치아 구성요소들의 발생지연, 치아발생의 지연 등이 관찰되었다는 보고 (Gartner 등 1977)와 일치하였다. 치아싹이 그 아래의 중간엽으로 자라내려감은 치아상피에서 유도작용이 중간엽으로 이행됨을 의미하며 (Mina와 Kollar 1987), 이 때 BMP, FGF, Shh, WNT 등의 유도신호를 중간엽세포에게 넘기게 되는데, 이들 신호에 의해 중간엽세포들이 치아싹주위에 밀집된다. 유도능력을 부여받은 중간엽은 치아싹 꼭대기부위, 즉 사기질매듭을 밀고 올라가 치아모양 결정시기인 모자시기로 들어서면서 치아유두를 형성하게 되고 사기질매듭에서는 맞닿은 치아기관에 다시 유도능력을 전달하게 되는데 (Thesleff와 Aberg 1999, Jervall와 Thesleff 2000), 방사선은 치아싹으로 분화될 상피세포들에 손상을 입혀 정상보다 훨씬 적은 수의 세포들이 치아싹을 형성하게 됨으로써, 아래에 있는 중간엽세포들의 밀집을 일으킬 수 있는 충분한 양의 유도신호를 보내지 못해, 다음단계로 넘어가기 위한 충분한 양의 중간엽밀집이 일어날 때까지 싹시기가 지연되는 것으로 보인다.

특히 본 실험에서 발생 13.5일에 대조군에서는 치아싹은 3~4층으로 된 표면의 덮개세포층과 그 아래에 키가 큰 2~3층의 원주세포로 이루어진 치아싹 고유부로 구성되고, 치아싹 아래 중간엽세포 밀집이 뚜렷하였으나, 방사선 조사군에서는 덮개세포

들이 2~3층이고 그 아래의 세포들도 키가 낮은 입방형이며, 치아싹 아래의 중간엽 밀집도 좀 더 성게나타났다. 이는 방사선이 치아싹을 형성할 세포들을 치사케하여 치아싹의 분화를 저해한 것으로 보인다. 이 저해로 인한 치아싹분화의 지연은 대조군에서도보다 2일 이상 길었는데, 여기서 형태학적으로 고려할 수 있는 한가지 중요한 점은, 방사선이 치아싹의 형성과정에서 그것을 덮고있는 치아판의 한 부분인 덮개상피세포들을 손상시켜 치아싹 고유부를 형성할 원주세포들을 유도하는 정보량이 부족할 것이라는 점이다. 이와 관련하여, 치아판이 두터워지면서 치아싹을 형성하는데 관여하는 것으로 추정되는 유전자들에는 FGFs, BMPs, Shh, Wnt (Vainio 등 1993, Bei와 Maas 1998, Hardcastle 등 1998, Thesleff와 Aberg 1999, Tucker와 Sharpe 1999) 등이 있다는 보고 외에 아직 어떻게 치아싹이 증식 및 분화되는가를 형태학적으로 관찰한 보고는 없다. 본 관찰을 통해 저자들은, 치아싹 고유부를 형성할 유전자들을 가진 치아판세포들이 시기가 되면 직접 분화하여 치아싹 고유부를 형성하는 것으로 생각할 수 있었다. 따라서, 이 시기에 방사선을 조사하면 이들 세포들을 손상시켜 치아싹고유부를 구성하는 세포 수의 부족과 함께, 유전물질의 전반적인 부족으로 발생이 지연될 것 (Jervall와 Thesleff 2000)으로 추정된다.

본 실험에서 나타난 또 다른 특징적인 형태학적 변화는 세포자멸사로, 덮개상피와 치아싹 고유부 사이의 세포자멸사와 방사선으로 유도된 세포자멸사의 두 가지가 있었다. 덮개상피와 치아싹 고유부 사이에서 발생한 세포자멸사는 발생 14.5일에 대조군에서 두 구조물 사이에 공간을 형성하기 위한 정상적인 것으로, 발생 16.5일에는 모자시기로 이행되어 두 구조물 사이는 치아끈에 의해서만 연결되고 그 사이 공간에는 중간엽이 채워져 결국 치아가 용출할 잇몸을 형성하는 것으로 보인다. 한편 방사선 조사군에서는 이 공간형성이 지연되어, 치아판세포들이 치아싹세포들로 충분한 분화되기 전에는 덮개상피와 치아싹 고유부의 분리가 일어나지 않음을 추정할 수 있었다. 또 다른 하나는 방사선에 의한 세포자멸사로, 이는 표면덮개세포들과 치아싹 고유부 세포들은 물론 중간엽세포들에서도 다수 나타났다.

이는 발생 16.5일까지 계속 관찰되었고 그로인해 치아발생이 현저히 지연 또는 저해되었는데, 이를 경시적으로 생각해 보면, 치아관에서 치아쌍의 형성이 개시되는 발생 12.7일에 방사선을 조사하면 치아쌍을 구성하는 상피세포와 치아쌍 고유부세포들에 손상을 입혀 세포수의 부족을 초래하여 정상보다 작은 치아쌍을 형성하게 되고, 그 작은 치아쌍에서 그 아래에 있는 중간엽으로 부족한 양의 정보를 보내게 되므로 신속하고 충분한 중간엽세포밀집이 일어나지 못해 치수와 치아주머니 형성이 늦어져 모자시기로의 이행이 지연되는 것으로 생각된다. 표면덮개세포들을 손상시켜 치아 고유부 발생을 지연시켰고, 이는 다시 그 아래의 중간엽세포들의 밀집을 지연시켜 정상군에서는 모자시기가 끝날 시기인 발생 17.5일까지 싹시기가 지연된 것으로 보인다. 이 시기는 치아형성능력이 치아쌍에서 중간엽으로 이동되는 시기로 상피에서 형성된 BMP4가 중간엽 분화를 유도하기 때문에 (Vainio 등 1993, Thesleff와 Aberg 1999) BMP4는 상피에서 중간엽으로 가는 결정적 형태형성 신호인 바, 치아쌍의 발생지연은 이 신호의 양과 질에 문제를 일으킬 것으로 생각된다. 아울러 방사선에 의해 유도된 세포자멸사는 발생지연으로 상피와 치아쌍의 분리를 지연시킴은 물론 치아쌍을 형성하는 세포들의 증식 및 배열이상을 일으켜 일부에서는 치아쌍의 형태이상도 관찰되어 이것이 치아 이상발생의 기전임을 알 수 있었다.

방사선 조사에 의한 치아발생의 지연은 대조군에서는 이미 모자시기로 이행된 후인 발생 16.5일과 17.5일까지 계속되었다. 대조군에서는 발생 16.5일에 이미 모자시기로 이행되어 표면상피와 치아기관이 치아끈에 의해 연결되고, 치수가 형성되고 치아기관에서는 바깥사기질상피, 별그물층, 불분명한 중간층, 속사기질상피 등이 구별되며, 치아기관 기저부에 있는 키가 큰 원주세포들 속에는 수많은 커다란 사립체들이 출현하였고, 치아주머니의 윤곽이 드러나고, 뼈 치조형성을 위한 중간엽밀집이 일어났으며 (Ten Cate 1998, Berkowitz 등 2002), 발생 17.5일은 진행된 모자시기로, 치수에 의해 속사기질상피에 유도된 사기질모세포들이 치아꼭대기부위에서부터 뚜

렷이 관찰되기 시작하였으며, 이 세포들의 기저부에는 많은 수의 커다란 사립체들이 출현하고 있어 지속적인 분화가 일어나고 있음을 보여주고 있었다 (Ten Cate 1998, Berkowitz 등 2002). 그러나 방사선 조사군에서는 발생 16.5일에도 치아쌍 표면상피와 치아기관과의 경계에 불분명한 좁은 공간이 출현하고, 납작하고 평행하게 배열된 세포들이 출현하는 등 치아싹시기가 계속되고 있었으며, 치아쌍 속에서는 더 이상의 세포자멸사는 관찰되지 않았으나, 중간엽세포에서는 여전히 세포자멸사가 관찰되어, 치아쌍에 미친 방사선의 손상효과는 사라진 것으로 보이나 중간엽세포들에서는 아직 남아있는 것으로 생각되었다. 발생 17.5일도 아직 치아싹시기로 기저부세포들에서는 오히려 사립체 수가 줄어들고 공포들이 다수 출현하였으며 가쪽세포사이공간이 많아지고 커졌고, 중간엽세포들에서도 공포들의 출현등 치아기관과 치아주머니내 중간엽 모두에서 괴사가 관찰되었다. 이는 발생 18.5일의 광학현미경 소견에서 치수속에 출혈소견이 관찰되어 허혈성괴사임이 밝혀졌는데, 이는 방사선조사의 직접적인 영향으로 혈관을 형성할 중간엽세포들이 세포자멸사를 일으켜 내피세포들로의 분화에 문제가 생겨 모세혈관의 생성부족과 출혈에 기인한 것으로 보인다. 치아형태의 결정에 있어 결정적 사건은 모자시기 초에 치아쌍의 꼭대기에서 접힘으로 시작되는 부위인 “사기질 매듭(enamel knot)” (Vaahtokari 등 1996)으로서 이는 모호한 상피세포 무리로서 “치아발생신호중심” (Jernvall 등 1994)이며, 여기에서 sonic hedgehog, FGF4, BMP7, BMP4, BMP2 (Koyama 등 1996, Vaahtokari 등 1996, Thesleff와 Aberg 1999) 등이 분비되며 이들이 교두(cusp) 형태형성을 지시하고 포유동물 치아구조의 진화적 변화를 이끄는에도 결정적 (Jernvall 1995)이기 때문에, 방사선에 의한 이 시기의 지연은 여러 치아기형을 초래할 수 있을 것으로 생각된다. 모자시기에는 이미 치아형성 능력이 치수에 있으며 치아기관의 바닥막에서, 상피는 중간엽이 치아모세포가 되도록, 중간엽은 상피가 사기질모세포가 되도록 상호 유도하는 바 (Thesleff 등 1989), 방사선 조사군은 아직 싹시기로 남아있어 중

간엽에 의한 사기질모세포의 유도를 기대할 수 없었다.

발생 18.5일에 대조군은 종시기로 이행되어 치아 기관 사기질모세포의 맞은 편 치수쪽에서 사기질모세포에 의해 유도된 치아모세포들의 형성이 뚜렷하게 관찰되고, 사기질모세포의 분화도 왕성하게 일어나는 것이 관찰되어 이 시기부터 상아질과 사기질의 생성이 개시되는 것으로 추정되었다(Ten Cate 1998, Berkowitz 등 2002). 한편, 방사선 조사군은 발생 17.5일까지도 싹시기에 머물러 있었으나 대부분이 모자시기로 이행되었고 또한 그들중 일부는 짧은 모자시기를 거쳐 종시기로 이행되었다. 이러한 변화는 피사의 과정을 거치면서도 일령의 경과에 따른 발생 프로그램에 따라 더 이상 싹시기를 유지하지 못하고 적은 수의 세포만으로도 모자시기 및 종시기로 이행되는 것으로 생각되며, 이러한 변화는 정상적인 분화를 유도하는 것으로 알려진 신호단백질들의 작용만으로는 설명하기 어려웠다.

발생 19.5일 이후부터 대조군에서는 종시기를 지나 길어지면서 치아용출단계로 들어갔으나, 방사선 조사군에서는 출혈성괴사가 더욱 심해졌으며 발생 20.5일부터는 더 이상의 치아발생이 계속되지 못했는데, 이 변화도 역시 허혈성괴사에 따른 것으로 보인다.

따라서 본 실험에서 방사선이 발생중인 치아에 미친 영향은 크게 두 단계로 생각할 수 있겠다. 첫째는 발생 16.5일까지의 변화로, 발생 12.7일에 조사한 방사선이 직접 치아발생에 관계하는 치아관과 치아싹세포들 및 그 아래에 있는 중간엽세포들에 손상을 입혀 유전물질의 부족에 의해 초래되는 분화지연현상이며, 두 번째는 발생 17.5일 이후의 변화로 발생 16.5일까지 일어난 직접적인 영향과 함께 발생 12.7일의 방사선 조사에 의해 손상받은 중간엽세포들로부터 내피세포로의 분화부전에 기인한 혈관신생의 부족과 불완전한 혈관에서의 출혈로 인해 치아발생조직에 허혈을 일으켜 초래된 괴사의 과정으로 볼 수 있겠다. 본 실험을 통해 볼 때, 방사선에 의한 이러한 변화가 치아발생의 지연으로부터 기형치아형성, 무치아발생 등 여러 가지 선천이상을 초래할 것으로 추정된다.

참 고 문 헌

- Adkins KF : The effect of 1200 R of X-radiation on dentinogenesis in the mandibular teeth of rats. *Archs Oral Biol* 12 : 1569-1576, 1967.
- Bei M, Maas R : FGFs and BMP4 induce both Msx1-independent and Msx1-dependent signaling pathways in early tooth development. *Development* 125 : 4325-4333, 1998.
- Berkowitz BKB, Holland GR, Moxham BJ : *Oral anatomy, embryology and histology*, 3rd ed. Mosby, New York, pp. 290-363, 2002.
- Bily B, Soshka J : Early changes in the growth zone of rat incisors following irradiation in the x-rays. *Csika Stomat* 64 : 246-252, 1964.
- Brent RL : Effects of radiation on the foetus, newborn and child; in Fry, Grahn, Griem and Rust, *Late Effect of Radiation*, pp. 23-60, 1970.
- Brent RL : Radiation teratogenesis. *Teratology* 21 : 281-298, 1980.
- Burston MS : The effect of radioactive phosphorus upon the development of the embryonic tooth bud and supporting structures. *Am J Pathol* 27 : 21-39, 1951.
- Gartner LP, Hiatt JL, Provenza DV : Effects of ionizing radiation on incisor development of the prenatal mouse. *Acta Anat* 98 : 367-375, 1977.
- Gilbert SF : Coordinated differentiation and morphogenesis in the tooth. In *Developmental biology*, 5th ed. Part V, Chapter 7, Sinauer Associates, INC. Publishers, Sunderland, Massachusetts, pp. 682-683, 1997.
- Hansen LS, English JA : Histological changes in the incisor teeth of rats serially sacrificed after receiving 1,500R of 200kV X-ray irradiation. *J Dent Res* 36 : 417-431, 1957.
- Hardcastle Z, Mo R, Hui C, Sharpe PT : The Shh signaling pathway in tooth development: defects in Gli2 and Gli3 mutants. *Development* 125 : 2803-2811, 1998.
- Hicks SP, D'Amato CJ : Effects of ionizing radiations on mammalian development; in Wodlam *Advances in Teratology*, Logos Press, London, pp. 196-250, 1966.
- Hoffman DA, Felten RP, Cyr HW : Effects of ionizing radiation on the developing embryo and fetus: a review. U.S. Dept. of Health and Human Service Publication (F.D.A.), 81-8710, pp. 10138, 1981.

- Horn Y, Markitziu A, Ulmanky M : Effect of single versus fractionated doses of x-radiation on incisors in rat. *J Dent Res* 54 : 378-383, 1975.
- Jernvall J, Kettunen P, Karavanova I, Martin LB, Thesleff I : Evidence for the role of the enamel knot as a control center in mammalian tooth cusp formation: non-dividing cells express growth stimulating Fgf-4 gene. *Int J Dev Biol* 38 : 463-469, 1994.
- Jernvall J : Mammalian molar cusp patterns: developmental mechanisms of diversity. *Acta Zool Fennica* 198 : 1-61, 1995.
- Jervall J, Thesleff I : Reiterative signaling and patterning during mammalian tooth morphogenesis. *Mechanisms of Development* 92 : 19-29, 2000.
- Koppang HS : The radiosensitive stages of rat incisor odontoblast as demonstrated by autoradiography. *Scand J Dent Res* 81 : 303-314, 1973.
- Koyama E, Yamaai T, Iseki S, Ohuchi H, Nohno T, Yoshioka H, Hayashi Y, Leatherman JL, Golden EB, Noji S, Pacifici M : Polarizing activity, Sonic hedgehog, and tooth development in embryonic and postnatal mouse. *Dev Dyn* 206 : 59-72, 1996.
- Mina M, Kollar EJ : The induction of odontogenesis in non-dental mesenchyme combined with early murine mandibular arch epithelium. *Arch Oral Biol* 32 : 123-127, 1987.
- Piekos B : Studies on the influence of X-radiation on the tooth primordia in the golden hamster (*Mesocricetus auratus*). *Acta Med Pol Vars* 10 : 75-118, 1969.
- Ritenour ER : Health effects of low level radiation; carcinogenesis, teratogenesis & mutagenesis. *Semin Nucl Med* 16 : 106-117, 1986.
- Rugh R : Major radiobiological concepts and ionizing radiation on the embryo and fetus; in Haley and Snider response of the Nervous System to Ionizing Radiation. Academic Press, New York, pp. 3-26, 1962.
- Rugh R : Wohlfromin X-irradiation sterilization of the premature female mouse. *Atopaxis* 10 : 511-518, 1964.
- Russell LB, Saylor CL : The relative sensitivity of various germ-cell stages of the mouse to radiation-induced nondisjunction, chromosome losses and deficiencies; in Sobels Repair from Genetic Radiation, pp. 313-342, 1963.
- Shiyuki Norimura, Satoshi Nomoto, Motoya Katusuki, Yoichi Gondo, Sohei Gondo : P53-dependent apoptosis suppresses radiation-induced teratogenesis. *Nature Medicine* 2 : 577-580, 1996.
- Smith RA : The effect of roentgen rays on the developing teeth of rats. *J Am Dent Ass* 18 : 111-118, 1931.
- Solomon HM, Beckman DA, Buck SJ, Gorson RO, Mills RE, Brent RL : Comparative effects of neutron irradiation and X irradiation on the embryonic development of the rat. *Radiat Res* 137 : 226-230, 1994.
- Ten Cate AR : Oral histology. 5th ed., Mosby, Saint Louis, pp. 78-103, 1998.
- Thesleff I, Aberg T : Molecular regulation of tooth development. *Bone* 25 : 123-125, 1999.
- Thesleff I, Vainio S, Jalkanen M : Cell-matrix interactions in tooth development. *Int J Dev Biol* 33 : 91-97, 1989.
- Tucker AS, Sharpe P : Molecular genetics of tooth morphogenesis and patterning: the right shape in the right place. *J Dent Res* 78 : 826-834, 1999.
- United Nations : Genetic and somatic effects of ionizing radiation. Report of United Nations Scientific Committee on the effects of atomic radiation to the General Assembly, With Annexes, United Nations, New York, pp. 1-365, 1986.
- Vahtokari A, Aberg T, Jernvall J, Keranen S, Thesleff I : The enamel knot as a signaling center in the developing mouse tooth. *Mech Dev* 54 : 39-43, 1996.
- Vainio S, Karavanova I, Jowett A, Thesleff I : Identification of BMP-4 as a signal mediating secondary induction between epithelial and mesenchymal tissues during early tooth development. *Cell* 75 : 45-58, 1993.

Abstract

The Effect of X-irradiation on the Developing Incisor Tooth of the Rat

Ju-Hwan Lee, Seung-Ro Han, Soo-Il Kim, Keun-Ja Cho,
Moon-Joon Cho¹, Won-Sik Kim

*Department of Anatomy and ¹Department of Radiation Therapy, College of Medicine,
Chungnam National University*

In the development of tooth, the first sign is the localized thickening of oral ectoderm to form the tooth bud, and then through the dialogue between the bud and underlying mesenchyme, proliferation and differentiation of bud cells and surrounding mesenchymal cells continue, and cap and bell stages follow. In each step of development, various teratogens may act directly and indirectly, and may result a certain congenital anomalies. To reveal the action mechanism of ionizing radiation on odontogenesis morphologically, 4 Gy X-ray irradiated on the rat (Sprague-Dawley strain) fetus on GD 12.7, and observed the histological changes of the upper incisor tooth from GD 13.5 to GD 20.5, daily. In the normal development of upper incisor tooth of rat, the bud stage was from GD 12.5 ~ GD 15.5, the cap stage was from GD 16.5 to GD 17.5, and the bell stage was GD 18.5 to GD 20.5. After X-irradiation on GD 12.7, the development of incisor tooth was delayed markedly, the bud stage was prolonged from GD 13.5 to GD 17.5, and the cap stage was GD 18.5 and the bell stage was from GD 19.5 to GD 20.5. After X-irradiation, from GD 13.5 to GD 16.5, apoptosis is observed in the dental organ and surrounding mesenchyme, hemorrhagic necrosis began from GD 16.5 at the center of dental pulp, followed ischemic necrosis of dental organ and surrounding mesenchyme. After GD 19.5, the development of tooth was ceased. These suggest that at least 2 mechanisms involved during X-ray teratogenesis on developing tooth. After X-irradiation on GD 12.7, initially, X-ray induced apoptosis of the cells of dental lamina and dental bud, which resulted the delayed proliferation and differentiation of dental bud and shortage of the number of cells having signal molecules which induce aggregation of the underlying mesenchymal cells. Lately, disorganization of the endothelial cells differentiated from the damaged mesenchymal cells, which resulted in rupture of capillaries and the hemorrhagic necrosis.

Key words : Odontogenesis, X-irradiation, Teratogenesis