

2006년 2월
박사학위논문

MTA를 이용한 직접치수복조술과
치수절단술 후 형성된
수복상아질의 조직학적 연구

조선대학교 대학원

치 의 학 과

박 슬 희

2006년 2월

박사학위논문

MTA를 이용한 직접치수복조술과 치수절단술 후 형성된 수복상아질의 조직학적 연구

박 슬 희

MTA를 이용한 직접치수복조술과
치수절단술 후 형성된
수복상아질의 조직학적 연구

Histological study of reparative dentin formation after
direct pulp capping and pulpotomy using MTA

2005년 12월 일

조선대학교 대학원

치 의 학 과

박 슬 희

MTA를 이용한 직접치수복조술과
치수절단술 후 형성된
수복상아질의 조직학적 연구

지도교수 황 호 길

이 논문을 치의학 박사학위 논문으로 제출함.

2005년 12월 일

조선대학교 대학원

치 의 학 과

박 슬 희

박슬희의 박사학위논문을 인준함.

위원장 경희대학교 교 수 최 기 운 인

위 원 조선대학교 교 수 조 영 곤 인

위 원 조선대학교 교 수 박 주 철 인

위 원 조선대학교 교 수 김 흥 중 인

위 원 조선대학교 교 수 황 호 길 인

2005 년 12 월 일

조선대학교 대학원

목 차

ABSTRACT	iv
I. 서 론	1
II. 실험재료 및 방법	4
1. 직접치수복조술 및 치수절단술의 시행	4
2. 조직표본제작 및 hematoxylin-eosin 염색	5
3. DSP와 BSP 항체를 이용한 면역조직화학적 염색	5
III. 실험결과	7
1. MTA를 이용한 직접치수복조술 시행군	7
2. MTA를 이용한 치수절단술 시행군	8
IV. 총괄 및 고안	10
V. 결 론	15
참고문헌	17
사진부도설명	23
사진부도	25

도 목 차

Fig. 1 Microphotographs from sections of direct pulp capping with MTA	25
A. Mechanical pulp exposure capped with MTA for 1 week (hematoxylin-eosin, ×40).	
B. Mechanical pulp exposure capped with MTA for 2 weeks (hematoxylin-eosin, ×100).	
C. Mechanical pulp exposure capped with MTA for 4 weeks (hematoxylin-eosin, ×100).	
D. Higher magnification of rectangular inset of Fig 1C (hematoxylin-eosin, ×100).	
E. Immunostaining of DSP protein in a mineralized particle and surrounding cells of Fig. 1B. (arrows) against DSP antibody (×100).	
F. Immunostaining of BSP protein in a mineralized particle and surrounding cells of Fig. 1B (×200).	
G. Immunostaining of DSP protein in newly formed dentin- like tissues Fig. 1D (×200).	

Fig. 2 Microphotographs from sections of pulpotomy with
 MTA 26

A. Pulpotomy with MTA for 2 weeks (hematoxylin-eosin,
 ×40).

B. Higher magnification of inset of Fig. 2A (×200).

C. Pulpotomy with MTA for 4 weeks (hematoxylin-eosin,
 ×400).

D. Immunostaining of BSP protein in reparative dentin
 bridge of Fig. 2B (×100).

E. Immunostaining of BSP protein in thickened reparative
 dentin of Fig. 2C (×200).

F. Immunostaining of DSP protein in normal odontoblast of
 Fig. 2C (×400).

ABSTRACT

Histological study of reparative dentin formation after
direct pulp capping and pulpotomy using MTA

Park, Seul-Hee

Advisor : Prof. Hwang, Ho-Keel, D.D.S., Ph.D.

Department of Dentistry,

Graduate School of Chosun University

Regenerative pulp treatment include two therapeutic approaches: indirect pulp capping in cases of deep dentinal cavities and direct pulp capping/pulpotomy in cases of pulp exposures. The ultimate goal of a regenerative pulp treatment strategy is to reconstitute normal tissue continuum at the pulp-dentin border, regulating tissue-specific processes of reparative dentinogenesis. However, little is known about the molecular mechanism of reparative dentinogenesis.

The purpose of this study was to investigate the pulpal response of dog's teeth after direct pulp capping and pulpotomy with mineral trioxide aggregate (MTA). Twelve teeth were treated with MTA. The animals were sacrificed and specimens were removed and prepared for histological analysis. All sections were histologically examined at 1 week, 2 weeks, and 4 weeks after treatment. The expression of

dentin sialoprotein (DSP) and bone sialoprotein (BSP) was also observed in all sections by immunohistochemistry.

The results were as follows:

1. There were continuous reparative dentin bridge formation at 2 weeks after treatment with MTA without inflammation and tissue necrosis in both pulp capping and pulpotomy group.
2. The cells in pulp capping group showed typical odontoblast characteristics, while the cells of reparative dentin in pulpotomy group were round in shape, lost their polarity, organized as a sheet of cells, and trapped in osteodentin-like mineralized tissue.
3. In pulp capping group, upper layer of the reparative dentin showed cell lacunae indicating osteoblastic characteristics, whereas lower layer of the reparative dentin contained predentin and dentinal tubule-like structures as normal dentin. However, there was osteodentin formation in pulpotomy group.
4. DSP protein was expressed at 4 weeks in odontoblasts of pulp capping group, while BSP was expressed at 4 weeks after pulpotomy. Interestingly, there were transient co-expression of BSP and DSP protein in differentiating cells around the dentinal chip at 2 weeks after pulp capping.

These results suggest that two different types of reparative dentin formation, dentin-like and bone-like dentin, maybe

depend, partly at least, on the type and extent of the injury and the effect of the associated defense reaction on the structural and functional integrity at the dentin-pulp border.

Key words: pulp capping, pulpotomy, MTA, reparative dentin, DSP, BSP

I. 서론

상아질-치수 복합체 (dentin-pulp complex)의 부분적인 손상은 치수강 내에 수복상아질 (reparative dentin, tertiary dentin) 형성에 의해 치유된다¹⁾. 치아가 치아우식증에 이환되거나 보존치료를 위한 와동형성과정 또는 외상에 의하여 손상될 경우 다양한 치수자극을 적절하게 치료하기 위하여 치수의 생활력을 보존하는 치료법 (vital pulp therapy)이 널리 이용되고 있다²⁾. 이는 근본적으로 치수의 수복상아질 형성에 의한 치유특성을 응용한 치료방법이다.

치수의 생활력을 유지하는 대표적인 치료법으로 치수는 노출되지 않았으나 깊은 와동의 경우에 시행하는 간접치수복조술 (indirect pulp capping)과 치수가 노출된 경우에 시행하는 직접치수복조술 (direct pulp capping)과 치수절단술 (pulpotomy)이 있다. 치수의 치유양상은 치수손상의 정도와 상아질-치수복합체의 구조적 기능적 상태에 따른 방어기전의 영향에 따라 다양하게 나타난다³⁾. 치수의 치유는 세 가지 양상으로 구분할 수 있다. 첫째로, 손상 정도가 미약하여 기존의 상아모세포가 손상되지 않고 남아 있는 경우로 이때는 자극에 반응하여 상아모세포가 원래의 상아질과 거의 유사한 특성을 나타내는 반응상아질 (reactionary dentin)을 형성한다⁴⁾. 둘째로, 치수는 노출되지 않았으나 손상이 심하여 기존의 상아모세포가 파괴된 경우에는 손상된 세포주위에 염증반응과 치유반응의 결과로 상아모세포와 유사한 세포 (odontoblast-like cell)가 분화하여 상아세관의 형태를 일부 유지한 수복상아질 (reparative dentin)이 형성된다⁵⁾. 셋째로, 치수가 노출되고 치수가 절단된 형태로 손상된 경우에는 일반적

으로 치수의 일부 괴사와 염증반응을 거쳐 미분화간엽세포로부터 상아모세포와 유사한 세포 (odontoblast-like cell)가 분화하지만 결과적으로 상아질의 특성과는 다른 특징을 나타내는 수복상아질을 형성한다^{6,7)}.

일반적으로 치수노출시 치수의 치유반응으로 형성된 수복상아질은 형태학적으로 관찰하면 발생과정에서 형성되는 정상 상아질에서는 볼 수 없는 독특한 특성을 나타낸다. 특징적으로 치유과정에서 수복상아질을 형성한 세포는 자신이 분비합성한 기질에 의하여 둘러싸이게 된다. 또한, 치유과정에서 형성된 수복상아질은 정상상아질에 비하여 교원질의 함량은 줄어들고 비교원질성 단백질이 증가한다. 결과적으로 이런 특징은 뼈와 매우 유사한 것이기 때문에 이 수복상아질을 골양상아질 (osteodentin)이라고도 한다. 그러나, 치수자극이 있을 때 수복상아질에 의하여 치수가 치유되는 과정을 명확히 설명할 수 있는 세포생물학적 기전이나 수복상아질의 특성을 규명하는 분자생물학적 기전에 대한 연구는 미미한 실정이다.

상아질을 형성하는 상아모세포와 뼈를 형성하는 골모세포는 여러 면에서 공통점을 가지고 있다. 그러나 상아모세포는 골모세포와 다르게 상아질-특이 유전자인 dentin sialoprotein (DSP)과 dentin phosphoprotein (DPP)의 두 가지 단백질로 구성된 dentin sialophosphoprotein (DSPP)를 합성한다⁸⁻¹³⁾. 형태학적으로는 상아모세포돌기를 포함하여 상아세관을 형성하지만 자신이 분비한 석회화된 기질에 세포가 둘러싸이지는 않는다. 또한, 인접 상아모세포의 세포체들 사이에는 상아모세포들을 강력하게 결합시키는 부착연접 (adhering junction) 등과 같은 다양한 세포사이 결합장치들이 발달되어 있다. 이와 비교하여 골모세포는 석회화 과정에 bone sialoprotein (BSP)를 합성하며 자신이 합성한 기질에 함입된다. 또한, 골모세포는 상아모세포와 다르게 세포들이 서로 부착되어

있지 않고 떨어져 있어서 세포들 사이에서 세포사이 결합장치는 거의 관찰할 수 없다¹⁴⁾.

Mineral trioxide aggregate (MTA)는 치근이개부 천공, 치근단부 절제시에 치근단 역충전재료로 개발 되었다^{15,16)}. 그러나 최근에는 근관치료 과정에서 좋은 결과를 가져오는 치유재료로서 치수복조술^{17,18)}이나 치수절단술¹⁹⁾에도 이용되고 있다.

이 연구에서는 성견에서 MTA를 이용한 직접치수복조술과 치수절단술에 의하여 형성된 수복상아질을 형태학적으로 평가하고, 뼈와 상아질을 구분할 수 있는 특이 단백질인 DSP와 BSP 항체를 이용한 면역조직학적 연구를 통하여 자극의 정도에 따라 다르게 형성되는 수복상아질의 특성을 비교 연구하였다.

Ⅱ . 실험재료 및 방법

1. 직접치수복조술 및 치수절단술의 시행

생후 약 8개월 된 10-15Kg의 성견 3마리를 사용하였다. 실험동물은 각각의 cage에서 동일한 조건으로 사육되었다. MTA (ProRoot[®], Densply, Tulsa, OK, USA) powder는 멸균된 생리식염수와 혼합하여 실험동물의 치수 노출부부에 사용되었다.

와동형성을 위하여 무균상태에서 성견에 ketamine (0.4 mg/kg Ketamine HCL)과 rumpon (1.5 ml/10 kg, Xylazine HCL)을 이용하여 전신마취를 시행하였다. 술전 감염방지를 위하여 30분전 gentamycin (0.09 ml/kg)을 근육주사하였고, 상-하악에서 4개의 치아 즉 견치와 제3절치를 각각 선택하여 치면세마후 활택술을 시행하였다. 개구기를 이용하여 입을 벌린 후에 2% lidocaine (1:100,000 epinephrine 함유)을 이용하여 시술부위를 국소마취하였다. 고속핸드피스와 tungsten carbide pear-shaped bur (ISO #330, SS. White, Lakewood NJ, USA)를 이용하여 치아의 협측부에 제5급 와동 (높이 2.5 mm, 폭 3.0 mm, 깊이 2.0mm)을 형성하였다. 우측 2개의 치아는 치수 측벽에 0.8-1.0 mm 넓이의 치수노출을 시행하고, 좌측 2개의 치아는 치수절단술을 시행하고 생리식염수와 NaOCl을 이용 교대로 세척하여 치수를 지혈 시킨 후 각각 MTA를 적용하고 아말감으로 수복하였다.

2. 조직 표본의 제작과 hematoxylin-eosin 염색

시술 1, 2, 4주 후에 각각 실험동물을 희생하고 치아를 포함한 악골을 절단하여 4℃, 4% paraformaldehyde 용액에서 고정하였다. PBS 용액으로 2시간 세척하고, 10% ethylene diamine tetraacetic acid (EDTA, pH 7.4) 용액에서 4주에서 6주간 탈회시킨 후, 70%, 80%, 90%, 95%, 100% I, 100% II, 100% III, 100% IV ethanol로 각각 12시간씩 탈수하였다. Chloroform 용액에서 4회 2시간씩 처리한 후 통법에 따라 파라핀 포매하고 5 µm 두께로 협설방향으로 박절한 후 ethoxysilran-coated 슬라이드에 붙인 후 hematoxylin-eosin 염색하여 광학현미경으로 관찰하였다.

3. DSP와 BSP 항체를 이용한 면역조직화학적 염색

절편을 탈파라핀과 함수과정을 거친 다음에 0.6% H₂O₂가 함유된 methanol 용액에 20분간, 2% non fat milk로 20분간 처리하였다. 절편을 1-2 mg/ml 농도의 단백분해효소 (Zymed Lab. Inc, CA, USA) 용액을 이용하여 37℃에서 10분간 처리한 후 1:20의 비율로 희석한 polyclonal rabbit anti-bone sialoprotein (BSP) antibody (Alexis Biochem. San Diego, CA, USA)와 polyclonal goat anti-dentin sialoprotein (DSP) antibody (Santa-Cruz, Biotech, Santa-Cruz, CA, USA)로 4℃에서 하룻밤 처리하고 PBS로 20분 동안 3회 세척하였다. 2차 항체로서 goat anti rabbit IgG와 rabbit anti goat IgG (Vector Lab, Burlingame, CA, USA)를 실온에서

45분 동안 처리하고 PBS로 수세하였다. ABC reagent (Vector Lab, Burlingame, CA, USA)를 이용하여 30분 동안 반응시킨 후 수세하였다. 0.05% DAB (deaminobenzidine tetrahydrochloride)를 이용하여 발색하고 절편을 수세, 탈수와 건조 후에 봉입하여 광학 현미경으로 관찰하였다.

Ⅲ. 실험 결과

1. MTA를 이용한 직접치수복조술 시행군

1) 광학 현미경 소견

시술 후 1주 소견에서 와동아래 치수조직에서 염증 소견이나 괴사 소견은 관찰되지 않았다. 치수가 노출된 부위에서는 정상적인 상아모세포를 관찰할 수 없었으나, 인접부위에서는 극성을 띄며 규칙적으로 배열된 정상적인 상아모세포들이 다수 관찰 되었다. 치수가 노출된 부위 바로 아래에 상아질편이 관찰 되었으며 그 주위에는 세포들이 모여들고 있었다 (Fig. 1A).

시술 후 2주 소견에서도 노출된 치수 조직에 특이한 염증소견은 관찰 되지 않았다. 절단된 상아질편의 바깥쪽보다는 치수의 심부쪽에서 입방형 세포들이 상아질편을 따라 잘 배열된 소견을 보였다 (Fig. 1B). 시술 후 2주 소견에서는 전체적으로 손상 치수부위가 부분적으로 석회화된 양상을 보였다.

시술 후 4주 소견에서는 손상 치수부위를 모두 덮는 수복상아질교를 관찰 할 수 있었다 (Fig. 1C). 수복상아질교의 위쪽에서는 석회화된 물질 사이사이에 세포의 존재를 생각할 수 있는 소강 (lacunae)과 같은 공간들이 관찰 되었다. 반면에 아래쪽에서는 석회화되지 않고 유기기질만 분포한 풋상아질 (predentin)과 유사한 구조물이 관찰되었다. 고배율 소견에서 수복상아질교의 아래쪽에서는 상아세관과 유사한 형태의 세관구조물들이 관찰 되었다 (Fig. 1D). 그러나 이들 세관은 정상적인 상아세관보다는 매우 불규칙한 배열양상을 나타냈다.

2) DSP와 BSP 면역조직화학적 소견

시술 후 2주 소견에서는 타원형 형태의 석회화된 구조물 주위에 존재하는 세포들은 DSP 단백질 (Fig. 1E)과 BSP 단백질 (Fig. 1F)의 발현이 모두 관찰되었다. 그러나 그 발현정도는 두 가지 모두 미약하였다. 두 단백질이 발현되는 세포들의 분포는 대체로 유사하였으나 일치하지는 않았다. 시술 후 4주의 수복상아질교 아래쪽의 풋상아질 아래에 위치하는 세포들에서는 DSP 단백질이 강하게 발현되었다 (Fig. 1G).

2. MTA를 이용한 치수절단술 시행군

1) 광학현미경 소견

시술 후 1주 소견에서 절단된 치수주위에 일부 울혈소견을 제외하고는 특이적인 염증소견은 관찰되지 않았으나, 부위에 따라 세포들이 국소적으로 밀집된 양상을 보였다.

시술 후 2주 소견에서는 치수절단면 하부를 따라서 반월형의 연속적으로 석회화된 수복상아질교가 관찰되었다 (Fig. 2A). 석회화된 수복상아질교의 중심부에는 많은 세포들이 수복상아질의 소강에 함입된 형태로 관찰되었다 (Fig. 2B).

시술 후 4주 소견에서 석회화된 수복상아질교는 점차 두터워지고 내부 세포의 수도 증가되면서 수복상아질의 형성이 치수절단부 아래의 잔존 치수부위까지 전체적으로 확대되는 소견을 보였다 (Fig. 2C).

2) DSP와 BSP 면역조직화학적 소견

시술 후 2주의 수복상아질교의 내부에 소강에 존재하는 세포들에서는 BSP단백질이 강하게 발현되었다 (Fig. 2D). 시술 후 4주의 수복상아질교에서도 두텁게 형성된 석회화 구조물 사이사이에 존재하는 세포에서

BSP 단백질의 강한 발현을 관찰할 수 있었다 (Fig. 2E). 반면에 DSP 단백질의 발현은 정상적인 상아모세포에서만 관찰되었고 (Fig. 2F), 수복상아질교를 형성하는 세포에서는 관찰되지 않았다.

IV. 총괄 및 고안

상아모세포는 치아 발생과정에서 치유두 유래의 외배엽성간엽세포(ectomesenchymal cell)로부터 치수와 함께 형성된다. 상아모세포는 발생과정에서 상아질 형성 후 치수의 외측 상아질의 내면에 위치해서 외부의 자극이나 손상에 반응하여 치수와 상아질의 생활력을 유지한다. 상아질의 기질은 무기기질과 유기기질로 구성된다. 상아질의 무기기질은 대부분이 수산화인회석 결정으로 이루어지며, 유기기질은 교원질성(collagenous)과 비교원질성(non-collagenous) 단백질로 구분된다. DSPP는 비교원질성 단백질로 상아질의 석회화 과정에 특이적으로 관여하는 것으로 알려져 있다^{20,21,22}.

상아질-치수 복합체를 부분 또는 전체적으로 보존하는 치료술식의 근본 원리는 치수내 상아모세포의 분화유도와 수복상아질의 형성이다. 따라서 치수자극에 대한 상아모세포의 반응과 상아모세포의 손상과 관련한 미분화간엽세포들의 분화와 수복상아질 형성 기전 등에 대한 이해가 상아질과 치수의 생활력을 보존하는 개선된 치료법의 개발을 위해 필수적이라 할 수 있다^{23,24}. 그러나 치수복조술과 치수절단술로 대별되는 치수의 생활력을 유지하는 치료법의 이론적 근거가 되는 수복상아질 형성의 실체와 이를 조절하는 기전에 관하여는 아직까지 잘 알려져 있지 않다. 이 연구에서는 최근에 근관치료 영역에서 널리 이용되고 있는 MTA를 이용하여 치수를 단순 노출 시키거나 절단하여 다양한 치수의 치유반응을 유도하였다. 자극의 정도와 치수세포 그리고 상아모세포의 손상 유무에 따라 다르게 형성된 수복상아질의 특성 차이를 형태학적으로 관찰하고, 이 결과를

상아모세포와 골모세포의 표지자로 활용가능한 DSP와 BSP 항체를 이용한 면역조직화학적 방법으로 비교하였다.

이 실험에서 단순치수노출로 MTA를 이용하여 직접치수복조술과 치수절단술을 시행한 경우의 치수와 상아질의 치유반응은 몇 가지 점에서 비교할 만하다. 첫째로, MTA를 이용한 직접치수복조술과 치수절단술 후 치유과정에서 두 술식 모두 치수조직에 뚜렷한 염증소견이나 조직의 괴사 없이 수복상아질교가 잘 형성되었다는 점이다. 이 결과는 Junn 등²⁵⁾과 Fraco와 Holland²⁶⁾가 보고한 MTA로 치수복조를 시행할 경우 수산화인회석 제재를 사용한 경우보다도 수복상아질교의 형성율이 높으며 염증도 잘 발생하지 않는다는 연구결과와 일치하며, 향후 다양한 치료 영역에서 MTA의 활용 가능성을 시사한다. 둘째로, MTA를 이용한 직접치수복조술 후 초기에 형성된 수복상아질은 뼈와 상아질의 특성을 모두 나타냈으나, 나중에 형성된 치수에 인접한 수복상아질은 전형적인 상아질의 특성을 보였다. 그러나, 치수절단술 후 형성된 수복상아질은 전체적으로 뼈의 특성이 포함된 골양상아질의 특성을 보였다는 점이다. 이 차이는 형태학적으로 직접치수복조술 후에는 세포소강과 상아세관 그리고 풋상아질이 모두 관찰된 사실과 치수절단술 후 거의 모든세포들이 기질에 함입되어 있는 구조적 특징에서도 확인할 수 있다. 면역조직화학적 염색 결과로 치수복조 후 수복상아질의 형성 초기에는 DSP와 BSP가 약하지만 동시에 발현되다가 시간이 경과함에 따라 BSP의 발현은 없어지고 DSP의 발현이 강하게 나타나는 사실과도 부합하며, 치수절단술 후 형성되는 수복상아질에서는 DSP의 발현없이 BSP 발현만 확인된다는 사실과도 일치한다. 결과적으로 이 실험에서 직접치수복조술 후에는 초기에 골양상아질이 형성되다가 나중에는 정상상아질의 특성을 나타내는 수복상아질로 치유되

었고, 치수절단술 후에는 골양상아질과 같은 수복상아질로 치유되었다. 이 결과는 이 실험의 환경이 화학적-기계적 자극이나 치아우식증 등과는 다르게 염증유발 요인이 존재하지 않는 상태에서 인위적으로 치수를 노출시켰다는 점과 치수와 상아질의 손상 범위가 광범위하지 않았다는 변수도 고려하여 해석되어야 한다. 따라서 이 결과를 토대로 치수손상이 골양상아질에 의하여 어느 정도 수복된 후 이차적으로 주위의 정상 상아모세포로부터 정상상아질이 형성될 수 있는지 여부를 결정하는 보완 연구가 필요할 것이다. 셋째로, MTA를 이용한 치수복조술 후 수복상아질교 형성 과정에서 와동형성시 만들어진 삭제 상아질편의 역할에 관한 것이다. Hey 등^{27,28)}과 Stanley²²⁾는 외부손상에 대한 치수의 치유과정에는 숙주의 방어 기전, 감염여부, 출혈의 양과 더불어 와동형성 과정에서 치수내로 들어오는 삭제 상아질편도 중요한 역할을 한다고 하였다. 이 실험에서도 삭제된 상아질편 주위로 상아모세포와 유사한 세포들이 분화하고 시간경과에 따라따라 이세포들이 수복상아질을 형성하였다. 이는 Tziafas 등³⁰⁾이 탈회된 상아질기질을 단기간 적용하여 손상된 상아질의 치유를 도모한 연구에서 상아질 기질주위에 세포들이 모여든다고한 연구 결과와도 부합한다. 그러나, 이 실험에서 상아질편의 주위에 존재하는 세포들이 치수복조 2주 후에 면역조직화학적으로 BSP와 DSP 단백질을 발현한 결과를 얻었다. 이는 상아질 유기기질이 상아모세포 뿐만 아니라 골모세포도 분화 유도할 수 있음을 나타내며, 이를 명확히 하기위해서 기질의 조성에 따라서 치수의 미분화간엽세포로부터 분화되는 세포들의 특성을 규명하는 분자생물학적 연구도 필요하다.

상아모세포의 분화과정은 다양한 세포기질분자, 신호전달물질, 성장인자 그리고 여러 수용체들이 관여하는 고도로 조직화된 과정으로 알려져

있다. 현재까지 알려진 상아모세포의 분화와 관련한 인자들로는 transforming growth factor- β (TGF- β)³¹⁾, bone morphogenic protein (BMP-2, -4, -7)^{32,33)}, dentin matrix protein 1 (DMP1)^{34,35)}, growth and differentiation factor 11 (Gdf11)³⁶⁾, connective tissue growth factor (CTGF)³⁷⁾ 그리고 그 외의 관련 인자 등^{38,39)}을 들 수 있다. 여러 인자들 중에서도 특히 TGF- β 1은 수복상아질의 형성에 중요한 것으로 알려져 왔다. Thyagarajan 등⁴⁰⁾은 TGF- β 1을 과발현 시킨 transgenic mice는 상아모세포가 세포 극성을 상실하고 골양상아질과 유사한 양상으로 세포가 기질에 함입되며, DSPP mRNA가 발현되지 않는 상아질을 만든다고 하였다. 이 연구 결과로 보아 지금까지 여러 연구에서 TGF- β 1을 사용하여 형성된 수복상아질은 상아질 보다는 뼈의 특성을 나타내는 것으로 간주할 수 있으며, TGF- β 1이 상아모세포보다는 골모세포로의 분화를 유도하는데 관여함을 의미한다. 이와 같이 TGF- β 1의 작용에 의해 형성되는 상아질은 생체에서 치수 손상 후 치유과정에서 만들어지는 골양상아질 형태의 수복상아질과 유사한 특성을 나타낸다.

최근에 알려진 Nuclear factor I (NFI) family는 전사-복제 인자들로 NFI-A, NFI-B, NFI-C 그리고 NFI-X의 네 가지 유전자들로 이루어져 있다. Steele-Perkins 등⁴¹⁾의 연구에서 NFI-C를 knock out하면 전치부는 골양상아질과 유사한 비정상적인 상아질이 형성되고 구치 치관부는 정상이지만 치근이 짧거나 비정상적으로 형성된다고 하여, NFI-C가 상아질 형성과정과 상아모세포의 분화과정에서 중요한 역할을 함을 시사 하였다. 배 등⁴²⁾은 상아모세포주인 MDPC-23 세포에 NFI-C를 과발현 또는 발현 억제시킨 후 DSPP와 BSP mRNA의 발현 확인을 통하여 상아모세포 분화과정에서 NFI-C의 역할을 규명하여 MDPC-23 세포에 NFI-C를

발현 억제 시킨 3일 후에는 BSP mRNA가 발현된다고 하였다. 이 결과는 NFI-C의 기능이 상실되면 MDPC-23 세포의 표현형이 상아모세포에서 골모세포로 변화될 수 있음을 시사한다. 결과적으로 NFI-C K/O 생쥐의 비정상적인 상아질도 치수 손상 후 치유과정에서 만들어지는 수복상아질과 유사한 특성을 나타낸다고 할 수 있다.

이 연구에서 직접치수복조술에 의하여 형성된 수복상아질은 정상 상아질과 유사한 특징을 보이고 치수절단술에 의하여 형성된 수복상아질은 뼈와 유사한 특징을 나타낸다는 사실이 형태학적 및 DSP와 BSP 항체를 이용한 면역조직화학적 분석에서 확인되었다. 그러나, 다양한 조건에서 형성되는 수복상아질을 연구하기 위해서는 수복상아질의 형성을 실험적으로 유도하는 방법 뿐만 아니라 TGF- β 1의 과발현과 NFI-C K/O 생쥐 등과 같이 이를 안정적으로 재현 가능한 동물 모델을 이용하여, 수복상아질의 형성과 관련한 추가적인 분자생물학적 연구의 수행이 필요 할 것으로 사료된다.

V. 결 론

손상된 상아질은 수복상아질을 형성하는 과정에 의하여 치유된다. 그러나, 생활치수를 보존하는 치료의 방법으로 널리 이용되고 있는 치수복조술이나 치수절단술 후 치수에서 만들어지는 수복상아질의 형성기전이나 실체에 관한 연구는 미미하다.

이 연구에서는 MTA를 이용한 직접치수복조술과 치수절단술에 의하여 형성된 수복 상아질을 형태학적으로 평가하였다. 또한, 자극의 정도에 따라 다르게 형성되는 수복상아질의 생물학적 특성을 빼와 상아질을 구분하는데 이용될 수 있는 DSP와 BSP 단백질의 항체를 이용한 면역조직학적 방법으로 비교 연구하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. MTA를 이용한 치수복조술 시행군과 치수절단술 시행군에서 치수손상 후 치유과정에서 치수조직에 염증소견이나 괴사소견은 관찰되지 않았으며, 술 후 2주의 소견에서 치수 손상부에 연속적인 수복상아질교가 형성되었다.
2. 치수복조술 시행군의 상아질교를 형성하는 세포들은 전형적인 상아모세포의 소견을 보였으나, 치수절단술 시행군의 세포들은 세포의 형태가 둥글고, 모여 있거나, 소강에 함입되어 전체적으로 골모세포와 유사한 소견을 보였다.
3. 치수복조술 시행군의 수복상아질교 위쪽은 석회화된 물질 사이사이에 세포 소강이 관찰되었으나, 아래쪽에서는 세관의 구조와 석회화되지 않고 유기기질만 분포한 풋상아질이 관찰되어 전형적인 상아질의 특

정을 보였다. 그러나 치수절단술 시행군에서는 전체적으로 골양상아질 형태의 수복상아질이 관찰 되었다.

4. 시술 후 4주 소견에서 치수복조술 시행군의 수복상아질교를 형성한 세포들에서는 DSP 단백질이 강하게 발현되었으나 치수절단술 시행군에서는 수복상아질교의 내부의 소강과 주위에 존재하는 세포들에서는 BSP단백질이 강하게 발현되었다. 그러나 치수복조술 시행군의 와동내부 절삭상아질편 주위에 존재하는 세포들은 시술 후 2주에서는 일시적으로 DSP단백질과 BSP 단백질이 동시에 발현되었다.

이 연구 결과는 치수가 자극의 정도와 상아모세포의 손상정도에 따라 다양한 특성의 수복상아질을 형성하여 치아를 보호함을 나타낸다. 앞으로, 이 결과를 임상에 응용하기 위해서는 다양한 형태의 수복상아질의 형성기전과 실제 규명등의 많은 보완 연구가 이루어져야 할 것으로 사료된다.

참고문헌

1. Baume LJ. The biology of pulp and dentine: Monographs in oral science. 1st ed., Myers HM, Basel, Karger, 1980, vol 8, pp 67-182.
2. Mjör IA. Pulp-dentin biology in restorative dentistry: The exposed pulp. *Quintessence Int* 33: 113-135, 2002.
3. Smith AJ. Pulpal responses to caries and dental repair. *Caries Res* 36: 223-232, 2002.
4. Murray PE, Smith AJ. Saving pulps-A biological basis: An overview. *Prim Dent Care* 9: 21-26, 2002.
5. Björndal L, Darvann T. A light microscopic study of odontoblastic and non-odontoblast cells involved in tertiary dentinogenesis in well-defined cavitated carious lesions. *Caries Res* 33: 50-60, 1999.
6. Fitzgerald M. Cellular mechanisms of dentinal bridge repair using ³H-thymidine. *J Dent Res* 58: 2198-2206, 1979.
7. Fitzgerald M, Ghiego JD Jr, Heys R. Autoradiographic analysis of odontoblast replacement following pulp exposure in primate teeth. *Arch Oral Biol* 35: 707-715, 1990.
8. Butler WT. Dentin-specific protien. *Methods in Enzymol* 145: 290-303, 1987.
9. Butler WT. Dentin matrix protein. *Eur J Oral Sci* 10691: 204-210, 1998.
10. Butler WT, Bhowan M, Brunn JC, D'souza RN, Farach-carson MC, Hartha RP, Schrohenloher Re, Seyer JM, Somerman MJ, Foster

- RA, Tomana M, Djik SV. Isolation, characterization immunolocalization of a 53-KDal dentin sialoprotein (DSP). *Matrix* 12: 343-351, 1992
11. D'souza RN, Cavender A, Sunavala G, Alvarez J, Ohshima T, Kulkarni AB, Macdougall M. Gene expression patterns of murine dentin matrix protein 1 (Dmp1) and dentin sialiphosphoprotein (DSPP) suggest distinct developmental functions in vivo. *J Bone Miner Res* 12: 2040-2049, 1997.
 12. Hanks CT, Butler WT. Expression of dentin sialoprotein (DSP) and other molecular determinants by new cell line from dental papillae, MDPC-23. *Connective Tissue Res* 37: 251-261, 1998.
 13. MacDougall M, Simmons D, Luan X, Nydegger J, Feng J, Gu TT. Dentin phosphoprotein and dentin sialoprotein are cleavage products Expressed from a single transcript coded by a gene on human chromosome 4. *J Biol Chem* 272: 835-842, 1997.
 14. Nanci A. Dentin-pulp complex in Tenca's oral histology. 6th ed., Missouri, Mosby, 2003, pp 203-205.
 15. Torabinejad M, Watson TF, Pitt Ford TR. Sealing ability of a mineral trioxide aggregate when used as a root end filling materials. *J Endod* 19: 591-595, 1993.
 16. Pitt Ford TR, Torabinejad M, McKendry DJ, Hong CU, Kariyawasam SP. Use of mineral trioxide aggregate for repair of furcal perforations. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 79: 756-763, 1995.

17. Pitt Ford TR, Torabinejad M, Abedi HR, Bakland LK, Kariyawasan SP. Using mineral trioxide aggregate as a pulp-capping material. *J Am Dent Assoc* 127: 1491-1496, 1996.
18. Tziafas D, Pantelidou O, Alvanou A, Belibasakis G, Papadimitriou S. The dentinogenic effect of mineral trioxide aggregate (MTA) in short-term capping experiments. *Int Endodon J* 35: 245-254, 2002.
19. Holland R, Souza V, Murata SS, Healing process of dog dental pulp after pulpotomy and pulp covering with mineral trioxide or Portland cement. *Braz Dent J* 12: 109-113, 2001.
20. Ritchie HH, Hou H, Veis A, Butler WT. Cloning and sequence determination of rat dentin sialoprotein, a novel dentin protein. *J Biol Chem* 269: 3698-3702, 1994.
21. Ritchie HH, Ritchie DG, Wang LH. Six decades of dentinogenesis research: historical and prospective views on phosphophoryn and dentin sialoprotein. *Eur J Oral Sci* 106: 211-220, 1998.
22. Garant PR. Oral cells and tissues. 1st ed., Quintessence books, 2003. pp 1-30.
23. Nyborg H. Healing processes in the dental pulp on capping. A morphologic study. Experiments on surgical lesions of the pulp in dog and man. *Acta Odontol Scand* 13(suppl 16): 1-130, 1955.
24. Cox CF, Bergenholtz G, Heys DR, Syed A, Fitzgerald M, Heys RJ. Pulp capping of the dental pulp mechanically exposed to the oral microflora: A 1-2 year observation of wound healing in the monkey. *J Oral Pathol* 14: 156-168, 1985.

25. Junn DJ, Mcmillian P, Backland LK, Torabinejad M, Quantitative assessment of dentin bridge formation following pulp capping with mineral trioxide aggregate. *J Endod (Abstract)* 24:278 1998.
26. Faraco IM Jr, Holland R. Response of the pulp of dogs to capping with mineral trioxide aggregate or a calcium hydroxide cement. *Dent Traumatol* 17: 1630166, 2001.
27. Heys DR, Fitzgerald M, Heys RJ, Chicago DJ. Healing of primate dental pulps capped with Teflon. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 69:227-237, 1990.
28. Heys DR, Cox CF, Heys RJ, Avery JK. Histological considerations of direct pulp capping agents. *J Dent Res* 60: 1371-1379. 1981.
29. Stanley HR. Pulp capping: Conserving the dental pulp-Can it be done? Is it worth it? *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 68: 628-639, 1989.
30. Tziafas D, Kolokuris I, Alvanou A, Kaidoglou K. Short-term dentinogenic response of dog dental pulp tissue after its induction by demineralized or native dentine or predentine. *Arch Oral Biol* 37: 119-128, 1992.
31. Tziafas D, Papadimitriou S. Role of exogenous TGF- β in induction of reparative dentinogenesis *in vivo*. *Eur J Oral Sci* 106: 192-196, 1998.
32. Nakashima M, Induction of dentin formation on canine amputated pulp by recombinant human bone morphogenic proteins (BMP)-2 and -4. *J Dent Res* 73: 1515-1522. 1994a.
33. Nakashima M, Induction of dentine in amputated pulp of dogs by

- recombinant human bone morphogenetic proteins -2 and -4 with collagen matrix. *Arch Oral Biol* 39: 1085-1089, 1994b.
34. Tziafas D, Kolokuris I. Inductive influences of demineralized dentin and bone matrix on pulp cells: an approach of secondary dentinogenesis. *J Dent Res* 69: 75-81,1990.
35. Narayanan K., Srinivas R., Ramachandran A., Hao J., Quinn B., and George A. Differentiation of embryonic mesenchymal cells to odontoblast-like cells by overexpression of dentin matrix protein 1. *Cell Biol* 98: 4516-4521. 2001
36. Nakashima M, Iohara K, Ishikawa M, Ito M, Tomokiyo A, Tanaka T, Akamine A. Stimulation of reparative dentin formation by *ex vivo* gene therapy using dental pulp stem cells electrotransfected with growth/differentiation factor 11 (Gdf11). *Human Gene Therapy* 15: 1045-1053. 2004.
37. Shimo T, Wu C, Billings PC, Piddington R, Rosenbloom J, Pacifici M, Koyama E. Expression, gene regulation, and roles of Fisp 12/CTGF in developing tooth germs. *Dev Dyn* 224: 267-278, 2002.
38. Nakamura Y, Hammarstrom L, Lundberg E, Mastumoto K, Gestrelus S, Lyngstadaas SP, Enamel matrix derivative promotes reparative processes in the dental pulp. *Adv Dent Res* 15: 105-7, 2001.
39. Begue-Kirn C, Smith AJ, Loriot M, Kupferle C, Ruch JV, Lesot H Comparative analysis of TGF- β s, BMPs, IGF1, Msxs, fibronectin, osteonectin and bone sialoprotein gene expression during normal and in vitro-induced odontoblast differentiation. *Int J Dev Biol* 38:

- 405-420, 1994.
40. Thyagarajan T, Sreenath T, Cho A, Wright JT, Kulkarni AB. Reduced expression of dentin sialophosphoprotein is associated with dysplastic dentin in mice overexpressing transforming growth factor-beta 1 in teeth. *J Biol Chem* 276: 11016-11020. 2001.
41. Steele-Perkins G, Butz KG, Lyons GE, Zeichner-David M, Kim HJ, Cho M-I, Gronostajski RM. Essential Role for NFI-C/CTF transcription-replication factor in tooth root development. *Mol Cell Biol* 23: 1075-1084, 2003.
42. 배현숙, 김홍중, 정문진, 박민주, 안성민, Gronostajski RM, 박주철. 상아모세포 분화과정에서 nuclear factor I-C의 역할. *대한구강병리학회지* 29: 83-82, 2005.

사진부도 설명

Fig. 1 Microphotographs from sections of direct pulp capping with MTA

- A. Mechanical pulp exposure capped with MTA for 1 week. Absence of inflammatory cell infiltration and normal soft tissue organization beneath the exposure site (hematoxylin-eosin, $\times 40$).
- B. Mechanical pulp exposure capped with MTA for 2 weeks. Note the mineralized particle surrounded by odontoblast-like cells beneath the exposure site (hematoxylin-eosin, $\times 100$).
- C. Mechanical pulp exposure capped with MTA for 4 weeks. Complete hard tissue bridge formation beneath the exposure site. The hard tissue contains predentin-like (arrows) unmineralized tissue layers. (hematoxylin-eosin, $\times 100$).
- D. Higher magnification of rectangular inset of Fig 1C. There are newly formed dentin-like tissues which contain numerous dentinal tubules (arrowheads) and underlying predentin layers (arrows). (hematoxylin-eosin, $\times 100$, d; dentin, pre-d; predentin, od; odontoblast).
- E. Immunostaining of DSP protein in a mineralized particle and surrounding cells of Fig. 1B. The surrounding cells are weak immunoreactivity (arrows) against DSP antibody ($\times 100$).
- F. Immunostaining of BSP protein in a mineralized particle and surrounding cells of Fig. 1B. The surrounding cells are also weak immunoreactivity (arrows) against BSP antibody ($\times 200$).
- G. Immunostaining of DSP protein in newly formed dentin-like tissues Fig. 1D. DSP is strongly expressed in odontoblast-like cells of the newly formed tissues. ($\times 200$, d; dentin, pre-d; predentin, od; odontoblast).

Fig. 2 Microphotographs from sections of pulpotomy with MTA

- A. Pulpotomy with MTA for 2 weeks. Complete hard tissue bridge formation are seen in the middle of the pulp cavity. (hematoxylin-eosin, $\times 40$).
- B. Higher magnification of inset of Fig. 2A. Many cells are embedded in hard tissue bridge. ($\times 200$, d; dentin, pre-d; predentin, od; odontoblast).
- C. Pulpotomy with MTA for 4 weeks. There are active hard tissue formation in the pulp cavity. (hematoxylin-eosin, $\times 400$).
- D. Immunostaining of BSP protein in reparative dentin bridge of Fig. 2B. Strong expression of BSP protein is seen in embedded cells of the hard tissue bridge (arrows). ($\times 100$, d; dentin, pre-d; predentin, od; odontoblast).
- E. Immunostaining of BSP protein in thickened reparative dentin of Fig. 2C. BSP protein is not expressed in odontoblasts (od) but in embedded cells (arrow) of the hard tissue. ($\times 200$, d; dentin, pre-d; predentin).
- F. Immunostaining of DSP protein in normal odontoblast of Fig. 2C. DSP preotein is expressed in entire layer of the odontoblast ($\times 400$).



