대치교정지 1996, 26(5) : 581-590

실험적 치아이동에 의한 백서 치주인대내 CGRP 면역 양성 신경섬유의 변화

성정옥[1] · 박효상[2] · 배용철[3] · 성재현[4]

교정력에 의하여 치주인대내에 생긴 압박측에서는 국소적 염증반응과 골 흡수가 활발히 일어나며 신장측은 골 생성이 활발하므로 위 두 부위는 서로 다른 조직반응이 일어 난다. 치아이동에 관여하는 것으로 알려진 CGRP 면역 양성 신경섬유도 압박 및 신장 부위에 따라 다를 것으로 생각된다.

저자등은 CGRP 면역 양성 신경섬유의 교정력 적용시간에 따른 변화를 관찰하고 압박 및 신장력을 받는 부위에 따른 변화를 관찰하기 위하여 200gm 내외의 생후 9주령 백서 상악 제1 대구치에 Ni-Ti coil spring으로 80gm내외의 교정력을 12시간, 1일, 3일, 7일, 12일동안 가한 후 희생하여 면역 조직화학법으로 염색하여 관찰하였다.

- 교정력 적용 12시간 및 1일군에서 압박 및 신장측 모두에서 CGRP 면역 양성 신경섬유가 감소되었다.
- 교정력 적용 3일군에서 CGRP 면역 양성 신경섬유는 많은 가는 분지가 관찰되며 증가되었고 특히 신장측에서 현저하였다.
- 교정력 적용 7일군에서는 비교적 굵은 CGRP 면역 양성 신경섬유도 증가 되었으며 신장측에서 현저하였다.
- 교정력 적용 12일군에서 압박측 치주인대에서는 거의 정상과 유사하였으나 신장측치주인대에서는 증가된 채 유지되었다.
- CGRP 면역 양성 신경섬유는 압박측보다 신장측에서 더 많이 증가하여 치아이동시 CGRP가 말초조직에서 염증반응에 관여함과 동시에 골 개조에도 상당한 연관성을 가지고 있을 것으로 생각된다.

(주요 단어: CGRP 면역 양성 신경섬유, 국소적 염증반응, 골 개조)

I. 서 론

치아에 교정력이 가하여지면 치주인대에 신장측과 압박측이 생기고 신장측에서는 골 생성이 압박측에서는 골 흡수가 일어나 치아는 이동하게 된다. 과거 임상가들은 경험적으로 치아이동을 성취하기 위한 노력을 기울여 왔고 현재 많은 새로운 치료법의 개발로 만족할만한 결과를 얻고 있다. 그러나 교정력에 대한 개개인의 반응의 차이, 치료기간이 너무 길다는 점, 치료후 재발 등의 문제점이 남아있다. 따라서 이를 해결하기 위해서는 치아이동이 어떤 기전으로 일어나는가에 대한 명확한 이해가 필수적이다.

치아이동의 기전을 밝히기 위한 연구로는 광학 현미경에 의한 형태학적인 연구를 시작으로 전자현미경을 이용한 미세구조적 연구, Autoradiographic study, 기계적 자극에 대한 세포수준의 생화학적 반응, 치주인대내 각종세포에 대한 신경, 면역, 내분비계의 영향에 관한 연구 등이 이루어지고 있다.

한편 1972년 Jancso-Gabor와 Szolcsanyi[19]는 지각

[1] 경북대학교 치과대학 교정학교실, 박사과정
[2] 계명대학교 의과대학 치과학교실, 전임강사
[3] 경북대학교 치과대학 해부학교실, 부교수
[4] 경북대학교 치과대학 교정학교실, 교수

신경섬유는 기계적 자극에 의한 유해자극을 중추신경계로 전달하며 뿐만 아니라 말초조직에 신경전달 물질을 분비하는데 이 신경전달 물질이 신경성 염증(neurogenic inflammation)을 일으킨다고 한 바 있다.

이들 중 CGRP는 중추신경계에서는 동통의 전달[36,42], 말초신경계에서는 혈관이완[3,9] 및 혈류증가[3,7,11], 심장박동 증가[9,35], Substance-P(SP) 분해억제[27], SP에 의한 혈장 단백질 유출보조[10]등의 기능을 가지고 있어 국소적 염증반응과 밀접한 연관성이 있을 것으로 알려져 있다. 그리고 CGRP는 또한 학자에 따라서 골 흡수를 촉진 또는 방해한다고 알려져 있다[2,5]. 따라서 CGRP는 교정력에 의한 치아이동시 나타나는 국소적 염증반응 및 골 개조와 상당한 연관성이 있을 것으로 추측 되어왔다.

한편 Kvinnsland 와 Kvinnsland[25], Saito 등[38]은 치아이동시 CGRP 면역 양성 신경섬유가 증가됨을 관찰하여 CGRP와 치아이동과의 연관성을 보고한 바 있다. 그러나 이들 선학의 연구에서는 신장, 압박측을 나누어 관찰하지 않았는데, 위에서 언급하였듯이 신장측과 압박측 치주인대 사이에는 서로 다른 조직반응이 일어나므로 CGRP 면역 양성 신경섬유의 변화도 다를 것으로 생각된다.

따라서 저자 등은 치아이동에 의한 신장 및 압박측 치주인대의 CGRP 면역 양성 신경섬유의 변화를 관찰하기 위하여 백서 구치에 교정력을 가하여 면역 조직 화학 법으로 관찰하고자 한다.

Ⅱ. 재료 및 방법

실험동물로는 생후 9주령의 200gm내외의 웅성백서를 사용하였다. 교정력 시간에 따라 12시간, 1일, 3일, 7일, 12일군, 그리고 정상 대조군으로 나누었으며 각군당 3마리 이상씩 배분하였다.

교정장치로는 Ni-Ti closed coil spring(Tomy® Japan)을 사용하였으며 상악 우측 제1대구치에 결찰한 후 80gm내외의 교정력을 내도록 활성화 시켜 상악 우측 절치에 결찰하였다.

1. 면역 조직화학 염색 및 검경

각 실험동물은 치사량의 sodium pentobarbital을 복강내로 주입하여 희생시킨 즉시 생리 식염수(0.85% Nacl) 및 4% paraformaldehyde (in 0.1M PB pH 7.4)로 심장을 통하여 관류 고정한 후 상악 우측 구치부를 악골과 함께 채취하였다.

2일간 4% paraformaldehyde에 후고정한 후 Plank Rychlo 용액으로 각 3일간 탈회하고 24시간 동안 30% Sucrose 용액에 침적시킨후 냉동 절편기로 시상면에 평행하도록 20㎛두께로 절단하여 slide glass에 올려 2시간 건조시켰다.

건조된 각 절편을 습윤용기에서 0.1M phosphate buffered saline(PBS)으로 10분간 2회 세척한 후 다시 0.05M PBS로 10분간 3회 세척하였고 내인성 과산화효소를 제거하기 위하여 0.5% H_2O_2로 30분간 반응시킨 후 0.05M PBS로 10분간 3회 세척하였다. 비특이적 반응을 억제하기 위하여 4% normal goat serum (NGS)로 2시간 동안 반응시켰다. 0.3% triton X-100이 함유된 0.05M PBS에 2400배 희석한 일차항체(polyclonal CGRP antiserum (Amersham international plc, Amersham, U.K.) 용액내에서 2시간 동안 실온에서 반응시킨 후 4℃에서 overnight 하였다. 0.3% triton X-100이 함유된 0.05M PBS로 10분씩 3회 세척하였고, 200배 희석한 Rabbit IgG(Vector Lab. Inc., U.S.A.)로 2시간 동안 실온에서 반응시킨 후 0.3% triton X-100이 포함된 0.05M PBS로 10분씩 3회 세척하였고, 항원-항체 반응을 가시화하기 위하여 avidin-biotin-peroxidase complex (Vectastain ABC kit, Vector Lab. Inc., U.S.A.)로 실온에서 2시간 반응시켰다.

그리고 0.3% triton X-100을 함유한 0.05M PBS로 10분씩 2회 세척한 후 다시 0.05M PBS로 10분씩 2회 세척하였고, 발색반응을 위하여 0.05%의 3.3'-diamino benzidine(DAB)과 0.01% H_2O_2가 포함된 0.05M PBS를 적용 반응시킨 후 0.05M PBS로 세척 반응을 정지시켰고 37℃ 항온기에 말린다음 광학현미경으로 관찰하였다.

면역반응의 특이성을 평가하기 위하여 모든 과정은 동일하게 하고 일차항체 대신 PBS를 반응시킨 경우 아무런 양성 반응이 나타나지 않음을 확인하였다.

Ⅲ. 성 적

본 연구에 적용된 교정력은 치아를 근심방향으로 경사이동시키므로 근심치근의 치근단 치주인대와 근심치경부 치주인대에는 압박력이, 원심치근의 치근단 치주인대와 원심치경부 치주인대에는 신장력이 가하여 진다[44](Fig. 1). 따라서 신장력과 압박력을 받는 부위를 나누어 관찰하기 위하여 위의 네 부위를 관찰하였다.

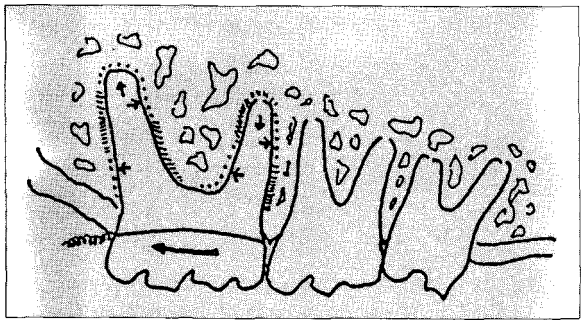


Fig. 1. Distribution of stress on maxillary molar to applied force. Arrows represent the direction of movement:dots, compression sites: lines, tension sites.

정상 대조군

치근단 하방의 치조골로 부터 CGRP 면역 양성 신경섬유(이하 신경섬유)의 다발이 치주인대내로 주행하여 들어왔으며 일부의 신경섬유는 치조골 측벽의 치조골로부터 치주인대로 주행하였다. 신경다발의 대부분은 혈관과 연관되어 있었다.

치근단부위의 신경섬유는 대부분 치수로 주행하였으며 일부의 신경섬유는 치근단 치주인대에서 분지를 내며 존재하였는데 치조골에 인접하여 존재하였다. 이들 분지의 대부분은 치주인대 섬유의 말단을 형성하였고 일부는 백악질 근처에까지 분지되어 있었다. 또한 일부의 분지는 치근과 평행하면서 혈관과 함께 치관방향으로 주행하였고 치경부 상방에서 망을 형성하였다.

치경부의 신경섬유는 대부분 혈관과 함께 존재하였는데 2-3가닥의 신경섬유가 혈관을 감싸며 치관방향으로 진행하는 양상이 관찰되었다.(Fig. 7a)

치조골 측벽으로 부터 들어온 신경섬유는 치관, 치근방향으로 나뉘어져 진행하였다. 따라서 신경섬유의 밀도는 치근단부위가 가장 높고 치경부, 치근중앙부 순이었다.

신경섬유는 치근단에서 치관방향, 치근중앙부에서 치관 또는 치근방향등으로 비교적 일정한 주행방향을 가지고 배열되어 있었다.

치조골 상방의 치은에는 협측 점막으로 부터 주행해 온 신경섬유와 치주인대로 부터 주행해 온 신경섬유가 함께 얽혀 있었으며 접합상피 하방에 까지 침투한 신경섬유도 관찰되었다.(Fig. 2a,2b)

교정력 적용 12시간 및 1일군

치근단 부위의 신경 섬유다발은 염색성이 감소되었으나 혈관과 함께 존재하였으며 비교적 원래의 형태를 유지하였다. 치근단부 및 치경부의 신경섬유는 밀도가 정상대조군에 비하여 현저히 감소되었는데 12시간군에서 더 밀도가 낮았다.

특히 치경부는 신경섬유의 밀도가 현저히 감소되었다. 1일군 신장측 치근단부에서는 가는 신경섬유가 분지를 내고 있는 양상이 간혹 관찰되었다.(Fig. 3a-3d)

교정력 적용 3일군

치근단부위의 신경섬유 다발은 정상 대조군과 유사하였으며 혈관과 함께 존재하였다. 비교적 굵은 신경섬유는 밀도가 감소하였으나 아주 가는 신경섬유는 혈관과 연관성이 없이 많은 분지를 내었는데 신장측 치주인대에서의 증가가 압박측 치주인대보다 더 현저하였다. 특히 신장측 치근단부에서는 가는 신경섬유가 매우 활발히 분지를 내는 것이 관찰되었다.

치경부 치주인대에서는 신경섬유의 밀도가 감소되었으나 신장측 치경부 치주인대에는 가는 분지가 간혹 관찰되었다.(Fig. 7b) 가는 신경섬유는 비교적 방향성을 가지고 주행하는 정상 대조군의 신경섬유의 배열과는 다르게 배열상태가 불규칙적이었다.(Fig. 4a-4d)

교정력 적용 7일군

치근단부위의 신경섬유 다발은 정상 대조군과 차이가 없었으나 중정도 굵기의 신경섬유는 많은 분지를 내며 밀도가 증가하였고 가는 신경섬유도 많은 분지를 내며 밀도가 증가하였다. 치경부 치주인대의 신경섬유는 밀도가 감소된 상태였으나 신장측 치경부 치주인대에서는 가는 분지를 내는 양상이 가끔 존재하였다.(Fig. 5a-5d)

교정력 적용 12일군

압박력이 가하여지는 근심치근 치근단부위에서 비교적 굵은 신경섬유는 정상 대조군과 비슷하였으나 가는 신경섬유의 밀도는 약간 증가된 상태였다. 신장력이 가하여 지는 원심치근 치근단부위에서는 굵은

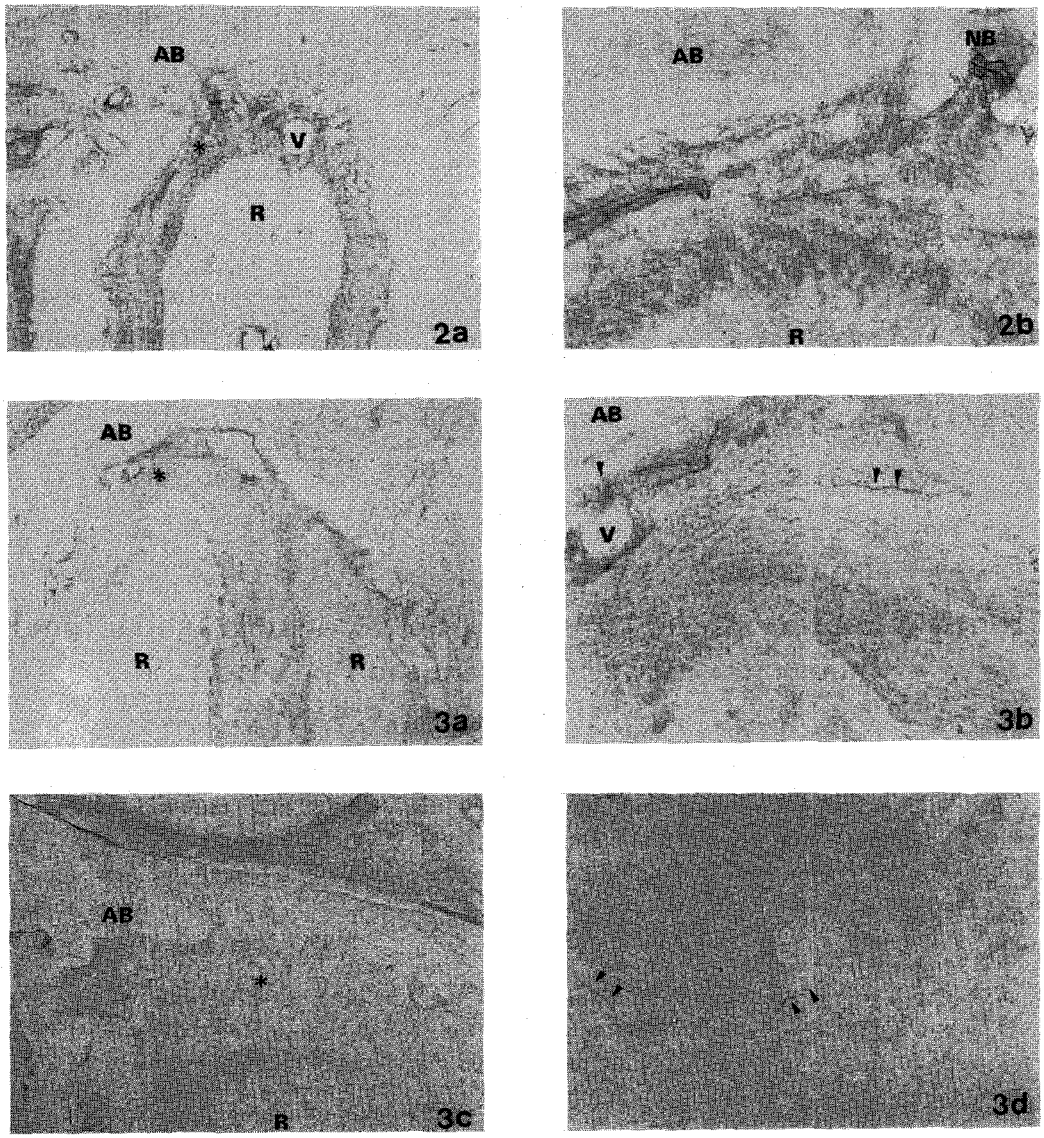


Fig. 2. Distribution of CGRP immuno-positive nerve fiber in normal control group. Nerve bundle have several branches in the apical periodontal ligament.

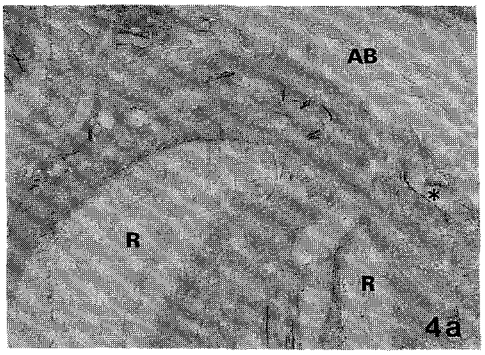
Fig. 3. The CGRP immuno-positive nerve bundle showed reduced immunoreactivity and nerve fibers reduced in number(▶) after application of orthodontic force for 12 hours. 3a,3b: distal root(compression site) 3c,3d: mesial root(tension site), 2a,3a,3c ×100, 2b,3b,3d ×400, :AB, alveolar bone:R, root:V, vessel:NB, nerve bundle.

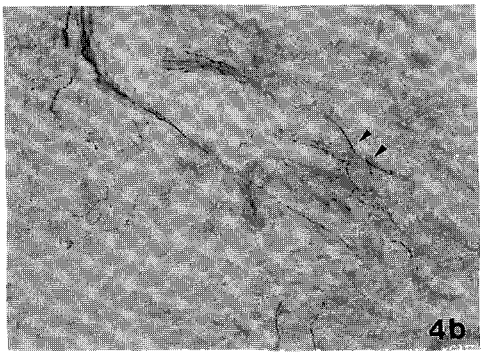
신경섬유가 정상 대조군에 비하여 약간 증가된 상태였고 가는 신경섬유는 많은 가는 분지를 내었는데 압박측보다도 더 증가된 상태였다.

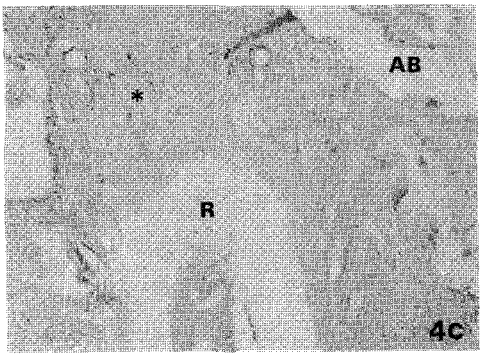
치경부 치주인대의 신경섬유는 압박측은 거의 정상 대조군과 유사하였으나 신장측은 가는 분지가 증가된 상태였다.(Fig. 7c) 신경섬유는 혈관과 연관성이 없이 존재하는 것이 많이 관찰되었고 배열 상태가 불규칙적이었다.(Fig. 6a-6d)

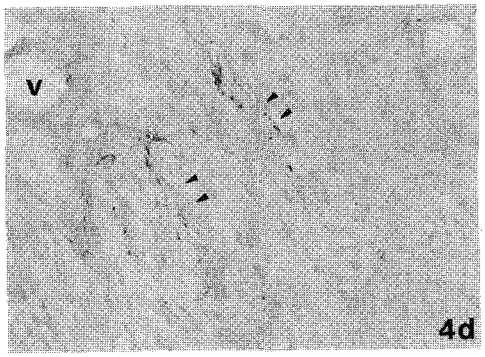
고 찰

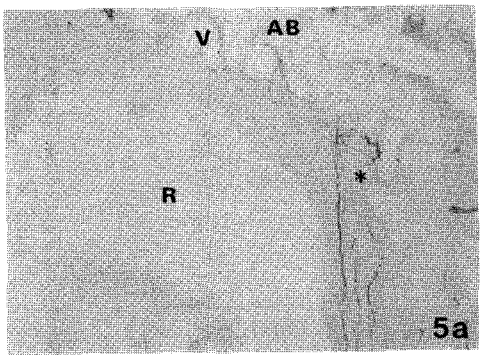
치주인대는 신경섬유가 매우 많이 분포되어 있는조

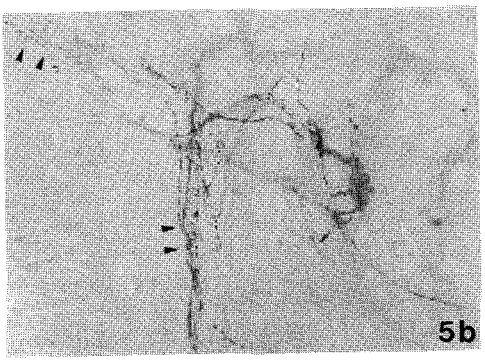

AB
R
R
4a

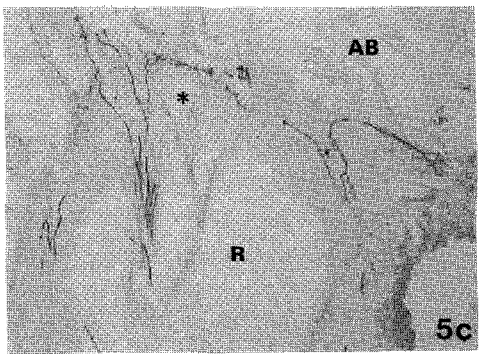

4b

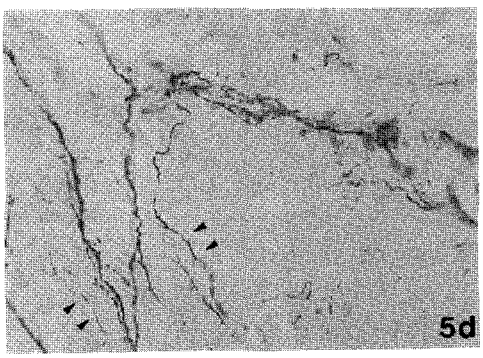

AB
R
4c


V
4d


V
AB
R
5a


5b


AB
R
5c


5d

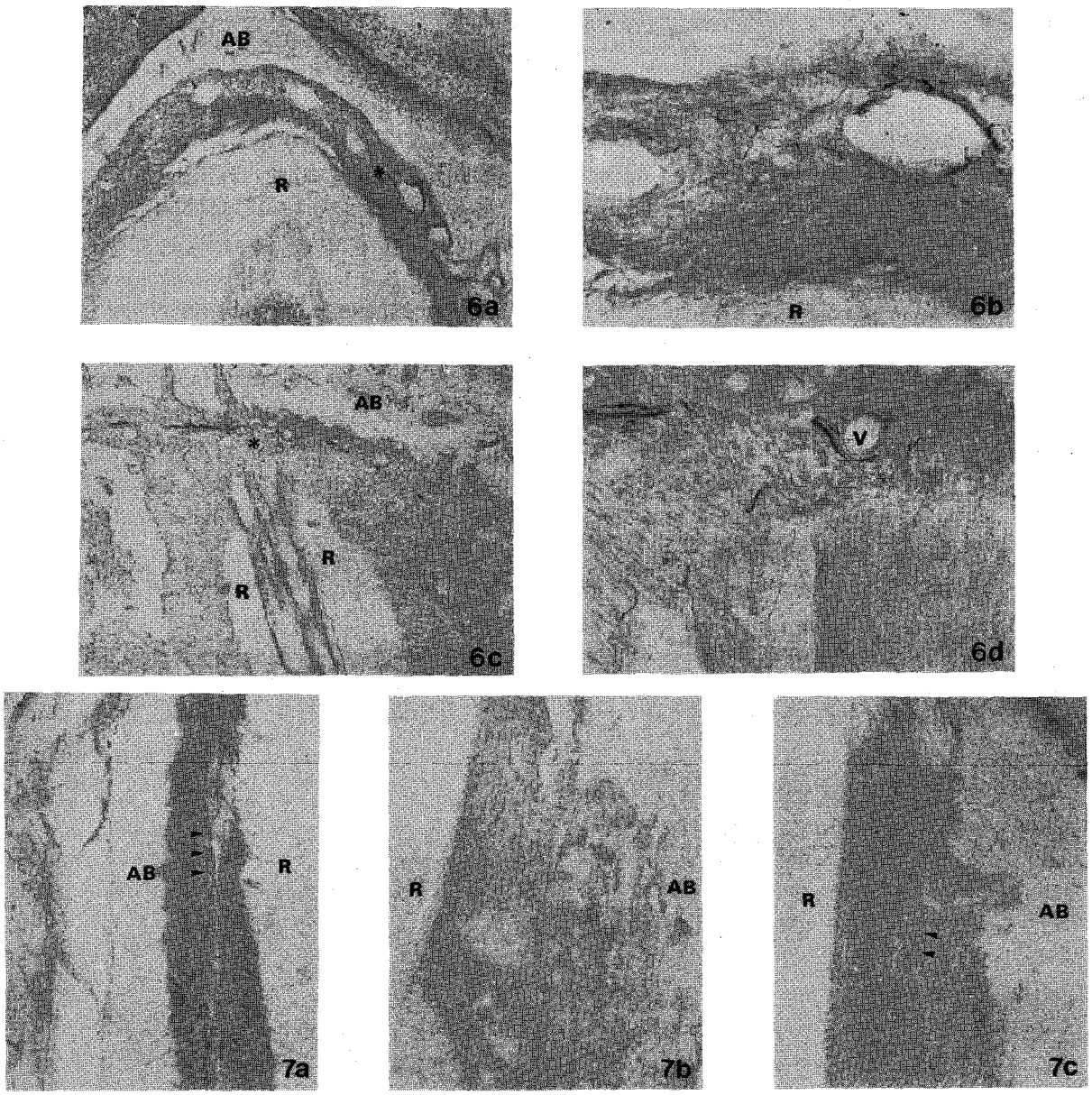


Fig. 4. In 3 day group, the CGRP immuno-positive nerve fibers showed many thin branches(▶) as compared with normal. The tension site(apical periodontal ligament of distal root) had more than the compression site.

Fig. 5. In 7 day group, the CGRP immuno-positive nerve fibers showed increased in number and had many thin branches(▶). The tension site had more than compression site.

Fig. 6. In 12 day group, the CGRP immuno-positive nerve fibers showed similar distribution to normal at compression site, but increased number of fibers at tension site.

Fig. 7. The CGRP immuno-positive nerve fibers at the mesial cervical periodontal ligament of normal control(7a)(▶), 3 day group(7b), and 12 day group(7c). The fibers in the 3 day group reduced in number. 4a,4b,5a,5b,6a,6b: mesial root, 4c,4d,5c,5d,6c,6d:distal root, 4a,4c,5a,5c,6a,6c × 100, 4b,4d,5b,5d,6b,6d ×400, 7a,7b,7c ×200, :AB, alveolar bone:R, root:V, vessel:NB, nerve bundle.

직으로서 치아에 가하여지는 여러 자극을 중추신경계로 전달한다. 또한 여러 종류의 신경전달 물질을 신경말단에서 분비하여 말초조직에 영향을 준다고 알려져 있다[19]. 이들을 살펴보면 교감신경과 연관성이 있다고 알려진 NP-Y(neuropeptide Y)[6]는 혈관수축 및 혈류감소 효과가 있고 VIP(vasoactive intestinal polypeptide)[16,17]는 전신적인 혈관이완 효과와 골 흡수를 촉진하는 기능이 있다. 지각섬유에서 분비된다고 알려진 SP(substance P)는 동통의 전달[21], 염증반응[28,41] 및 면역체계의 조절[30]에 관여한다고 보고되고 있다.

또 CGRP는 최근에 발견된 neuropeptide로서 37개의 아미노산으로 구성되어 있으며 16,000dalton의 분자량을 가지고 있다[1,36]. CGRP는 중추신경계에서는 동통의 전달[32,36,42], 뇌의 혈류 조절[40], 뇌척수액 생성, neurotrophic factor의 분비[34]등에 기여할 것으로 추측되고 있으며 말초조직에서는 SP보다 1000배나 높은 혈관이완 효과를 가지고 있고[3,9,23,24] 그외 혈류 증가[3,7,11,18,26,33,41], 심박동의 증가[9,35,39], 혈관 평활근 세포의 DNA 및 단백합성능 증가[31], 혈관 내피세포의 증식 촉진[13]등의 기능을 가지고 있다. 또한 SP의 분해억제 효과[27] 와 SP에 의한 혈장단백질 유출보조[10] 등의 neuromodulator로서의 기능도 가지고 있다.

한편 CGRP는 골 개조에도 관여하는것으로 보고되고 있는데 초기의 연구에서는 CGRP가 calcitonin receptor에 반응하여 효과를 나타낼 것으로 생각되어 골 흡수를 억제하며 골 생성을 촉진할 것이라 생각하였다. Hill과 Elde[15]는 VIP는 골 흡수를 촉진하나 CGRP는 골 흡수를 방해한다고 하였고 Heyeraas 등[14]은 CGRP 면역 양성 신경섬유가 상아질 및 백악질 근처에 나타나며 일부 조골세포와 연관되어 나타나는 것으로 보아 경조직에 대한 자극효과가 있을 것이라 하였으며 Bernard와 Shih[2]도 CGRP의 조골자극 효과에 대하여 보고한 바 있다. 그러나 Roos 등[35]은 고농도에서는 calcitonin과 같이 혈중 calcium의 농도를 낮추고 골 흡수를 방해하나 실제에도 저농도로 존재하므로 작용이 다를 수 있다고 하였으며, Goltzman과 Mitchell[12]은 CGRP가 calcitonin receptor에 대해 calcitonin과 상경적으로 작용하지만 서로 다른 secondary messenger system을 가지고 있다고 하였다. 더욱이 Davidovitch 등[5]은 SP, VIP보다는 작지만 CGRP도 골 흡수를 촉진시킨다고 하여 상반된 결과를 보고하였다.

본 연구에서 12시간, 1일군에서 압박측 및 신장측 치주인대 모두에서 CGRP 면역 양성 신경섬유의 밀도가 감소되었는데, 압박측 치주인대에서는 신경섬유가 압박에 의하여 파괴되었다고 볼 수 있으나 신장측 치주인대에서의 감소는 어떤 다른 기전이 있을 것으로 생각된다. 추측되는 하나의 설명은 삼차 신경절의 CGRP함유 세포체가 교정력 적용 3시간후에 가장 적게되며 이후 점차 증가하여 교정력 적용 12시간에 거의 정상수준으로 회복된다는 Kemi 등[20]의 연구와 세포체에서 만들어진 신경전달 물질이 말단까지 수송되는데 9-12시간 걸린다는 Fink 등[9]의 연구로 미루어 볼 때 기계적 자극에 의하여 CGRP가 말초조직에 분비되고 이자극에 의하여 삼차 신경절의 세포체에서 새로 만들어진 CGRP가 신경섬유의 말단에까지 수송되는 시점까지의 일시적인 고갈 상태에 이르게 되어 일어난 현상으로 생각된다.

3일, 7일, 12일군에서 CGRP 면역 양성 신경섬유가 증가된 것은 CGRP를 소량 함유하였던 신경섬유가 자극에 의하여 CGRP를 많이 함유하게 되어 CGRP 면역 양성 신경섬유가 증가된 것이거나, 신경섬유가 재생되고 분지가 증가되어 일어난 현상으로 추측된다. Taylor 등[43]은 치수손상에 의한 CGRP 면역 양성 신경섬유의 증가는 전자현미경을 통해 볼 때 CGRP를 함유하지 않은 신경섬유도 증가되는 것으로 보아 신경섬유의 재생에 의한 것이라 하였고 Rozso 등[37]도 각막 절개후 CGRP 면역 양성 신경섬유의 재생을 관찰하였다. 그러나 Kvinnsland와 Kvinnsland[25]는 치주인대에서의 CGRP 면역 양성 신경섬유의 증가는 위의 두 요인이 모두 관여한다고 추측하였으나 명확한 증거는 없는 상태로 향후 연구가 필요할 것으로 생각된다.

3일, 7일, 12일군의 CGRP 면역 양성 신경섬유는 압박측 치주인대에 비하여 신장측에서 더 많은 증가를 보였다. 이것과 함께 염증반응은 상대적으로 조직의 파괴가 더 심하게 일어나는 압박측 치주인대에서 더 많이 일어난다는 사실과 CGRP가 골 생성촉진의 기능이 있을 것이란 선학들의 연구로 미루어 볼 때 CGRP는 염증 반응에도 관여하지만 골 개조에 더 많이 관여한다고 볼 수 있다.

한편 Kjartansson과 Dalsgaard 등[23]은 SP와 CGRP는 혈관이완 효과를 가지는데 capsaicin처리를 하면 SP와 CGRP가 고갈되어 혈류의 감소가 생기고 피판의 성공률이 감소된다고 하였으나 Kjartansson과 Dalsgaard[24]는 또한 CGRP의 피판의 성공률을 높이는 효과는 혈관이완을 나타내는 농도보다 낮은 농도에서도 나타나므로 이것은 CGRP가 다른 기전 즉 조

직의 손상치유에 관여하기 때문이라 하였다. 또 Haegerstrand[13]는 CGRP가 혈관 내피세포의 증식에 관여한다고 하였고, Mitsuhasi와 Payan[31]은 혈관 평활근의 증식에 관여한다고 하였고, Kimberly와 Bayers[22]는 치수손상후 sprouting된 CGRP 면역 양성 신경섬유는 염증반응은 물론 방어기전, 조직 치유에도 관여한다고 하였다. 이처럼 CGRP는 파괴된 조직의 치유에도 밀접한 연관성을 가지고 있다고 생각되어 치아이동시 치주인대내의 파괴된 조직의 재생에도 어느정도 관여할 것으로 생각된다.

Goltzman과 Mitchell[12]은 CGRP의 세포에 대한 작용기전은 adenylate cyclase를 직접 자극하여 세포내에 secondary messenger인 cAMP를 증가 시킨다고 하였고, Davidovitch 등[4]은 치아이동시 치주인대 세포의 cAMP가 증가됨을 관찰한 바 있다.

이와 같이 CGRP 는 치주인대내 세포에 직접 작용하는 경로와 혈관이완, 말초조직 혈류증가, 혈장단백질 유출 등에 의한 말초조직내 염증세포 침윤, cytokine의 분비를 통한 간접적인 경로를 통하여 치아이동에 관여한다고 볼 수 있다. 그러나 신경전달 물질은 매우 많은 종류가 존재하며 생체 내에서의 반응은 여러 신경전달 물질과 호르몬, 그리고 cytokine등이 복합적으로 작용하므로 CGRP가 치아이동에 관여한다는 것은 분명하나 어떤 기전으로 관여하는 지에 대하여는 명확하지 않으므로 향후 많은 연구를 통하여 밝혀야 할 것이다.

Ⅳ. 요 약

치아이동에 관여하는 것으로 알려진 CGRP 면역 양성 신경섬유의 교정력 적용시간에 따른 변화를 관찰하고 압박 및 신장력을 받는 부위에 따른 변화를 관찰하기 위하여 200gm 내외의 생후 9주령 백서 상악 제1 대구치에 Ni-Ti coil spring으로 80gm내외의 교정력을 12시간, 1일, 3일, 7일, 12일동안 가한후 희생하여 면역 조직화학법으로 염색하여 관찰 하였다.

1. 교정력 적용 12시간 및 1일군에서 압박 및 신장측 모두에서 CGRP 면역 양성 신경섬유가 감소되었다.
2. 교정력 적용 3일군에서 CGRP 면역 양성 신경섬유는 많은 가는 분지가 관찰되어 증가되었고 특히 신장측에서 현저하였다.
3. 교정력 적용 7일군에서는 비교적 굵은 CGRP 면역 양성 신경섬유도 증가 되었으며 신장측에서 현저하였다.
4. 교정력 적용 12일군에서 압박측 치주인대에서는 거의 정상과 유사하였으나 신장측 치주인대에서는 증가된 채 유지되었다.
5. CGRP 면역 양성 신경섬유는 압박측보다 신장측에서 더 많이 증가하여 치아이동시 CGRP가 말초조직에서 염증반응에 관여함과 동시에 골 개조에도 상당한 연관성을 가지고 있을 것으로 생각된다.

참 고 문 헌

1. Amara SG, Jonas V, Rosenfeld MG, Ong ES, and Evans RM Alternative RNA processing in calcitonin gene expression mRNAs encoding different polypeptide products. Nature 1982:298:240-244.
2. Bernard GW, Shih C The osteogenic stimulating effect of neuroactive calcitonin gene-related peptide. Peptides 1990:11:625-632.
3. Brain SD, Williams TJ, Tippins JR, Morris HR, and MacIntyre I Calcitonin gene-related peptide is a potent vasodilator. Nature 1985:313:54-56.
4. Davidovitch Z, Gogen MH, Okamoto Y, and Shanfeld JL Neurotransmitters and cytokines as regulators of bone remodelling. In : bone biodymics in orthodontic and orthopedic treatment. Vol 27. Craniofacial growth series. Center for human growth and development. The University of Michigan. Ann Arbor. Michigan 1991:141-162.
5. Davidovith Z, Rosol T, and Shanfeld J Direct effects of neurotransmitters on bone resorption. J Dent Res, 1990: 69:206.
6. Edwall B, Gazelius B, Fazekas A, Theodorsson-Norheim E, and Lundberg JM Neuropeptide Y(NPY) and sympathetic control of blood flow in oral mucosa and dental pulp in the cat. Acta Physiol Scand 1985: 125:253-264.
7. Fazekas A, Vindisch K, Posch E, and Györfi A Experimentally - induced neurogenic inflammation in the rat oral mucosa. J Periodont Res 1990:25:276-282.
8. Fink, B.R., Kish, S.J. and Byers, M.R. : Rapid axonal transport in trigeminal rat. Brain Res, 1975: 90:85-95.
9. Franco-cereceda A, Henke H, Lundberg JM, Petermann JB, Hökfelt T, and Fischer JA Calcitonin gene-related peptide(CGRP) in capsaicin-sensitive substance P-immunoreactive sensory neurons in animals and man : distribution and release by capsaicin. Peptides 1987: 8(2):399-410.
10. Gamse R, Saria A Potentiation of tachykinin-induced plasma protein extravasation by calcitonin gene-related peptide. Eur J Pharmacol 1985:114:61-66.
11. Gazelius B, Edwall B, Olgart L, Lundberg JM, Hökfelt T, and Fischer JA Vasodilatory effects and coexistence of

calcitonin gene-related peptide(CGRP) and substance P in sensory nerves of cat dental pulp. Acta Physiol Scand 1987:130:33-40.
12. Goltzman D, Mitchell J Interaction of calcitonin and calcitonin gene-related peptide at receptor sites in target tissues. Science 1985:227:1343-1345.
13. Haegerstrand A, Dalsgaard CJ, Jonzon B, Larsson O, and Nilsson J Calcitonin gene-related peptide stimulates proliferation of human endothelial cells. Proc Natl Acad Sci 1990:87:3299-3303.
14. Heyeraas KJ, Kvinnsland I, Byers MR, and Jacobson EB Nerve fibers immunoreactive to protein gene product 9.5, calcitonin gene-related peptide, substance P, and neuropeptide Y in the dental pulp, periodontal ligament and gingiva in cats. Acta Odontol Scand 1993:51:207-221.
15. Hill EL, Elde R Calcitonin gene-related peptide-immunoreactive nerve fibers in mandibular periosteum of rat : evidence for primary afferent origin. Neurosci Lett 1988:85:172-178.
16. Hohmann EL, Elde RP, Rysavy JA, Einzig S, and Gebhard RL Innervationof periostum and bone by sympathetic vasoactive intestinal peptide-containing nerve fibers. Science 1986:232:868-871.
17. Hohmann EL, Levine L, Tashjian AH Vasoactive intestinal peptide stimulates bone resorption via a cyclic adenosine 3',5'-monophosphate-dependent mechanism. Endocrinology 1983:112:1233-1239.
18. Hua X Tachykinins and calcitonin gene-related peptide in relation to peripheral functions of capsaicin-sensitive sensory neurons. Acta Phisiol Suppl 1986:551:1-45.
19. Jancso-Gabor A, Szolcsanyi J Neurogenic inflammatory responses. J Dent Res 1972:51:264-269.
20. Kemi S, Saito I, Hanada K, and Takano Y An immunohistochemical study on response of calcitonin gene-related peptide(CGRP) immunopositive neurons in trigeminal ganglion during experimental tooth movement, J Jap Orthod 1996:55:211-222.
21. Kim S Neurovascular interactions in the dental pulp in health and inflammation. J Endo 1990:16:48-53.
22. Kimberly CL, Byers MR Inflammation of rat molar pulp and periodontium causes increased calcitonin gene-related peptide and axonal sprouting. Anat Rec 1988:222:289-300.
23. Kjartansson J, Dalsgaard CJ, and Jonsson CE Decreased survival of experimental critical flaps in rats after sensory denervation with capsaicin. Plast Reconstr Surg 1987:79(2):218-220.
24. Kjartansson J, Dalsgaard CJ CGRP increases survival of a musculocutaneous critical flap in the rat. Eur J pharmacol 1987:142:355-358.
25. Kvinnsland I, Kvinnsland S Changes in CGRP- immunoreactive nerve fibers during experimental tooth movement in rats. Europ J Orthod 1990:12:320-329.
26. Kvinnsland S, Heyeraas KJ, and Ofjord ES Effect of experimental tooth movement on periodontal and pulpal blood flow. Europ J Orthod 1989:11:200-205.
27. Le Greves P, Nyberg F, Terenius L, and Hökfelt T Calcitonin gene-related peptide is a potent inhibitor of substance P degradation. Eur J pharmacol 1985:115:309-311.
28. Levine JD, Clark R, Devor M, and et.al. intraneuronal substance P contributes to the severity of experimental arthritis. Science 1984:23:547-549.
29. Lindsay RM, Lockett L, Sternberg J, and Winter J Neuropeptide expression in cultures of adult sensory neurons : modulation of substance P and calcitonin gene-related peptide levels by nerve growth factor. Neuroscience 1989:33(1):53-65.
30. Lotz M, Vaughan JH, Carson DA Effect of neuropeptides on production of inflammatory cytokines by human monocytes. Science 1988:241:1218-1221.
31. Mitsuhashi M, Payan DG The mitogenic effects of vasoactive neuropeptides on cultured smooth muscle cell lines. Life Science 1987:40(4):853-861.
32. Morton CR, Hutchison WD Release of sensory neuropeptides in the spinal cord : studies with calcitonin gene-related peptide and galanin. Neuroscience 1989: 31:807-815.
33. Olgart L, Edwall L, and Fried K Cat dental pulp after denervation and subsequent re-innervation : changes in blood-flow regulation and distribution of neuropeptide-GAP-43 and low affinity neurotrophin receptor-like immunoreactivity. Brain Res 1993:625:109-119.
34. Risling M, Dalsgaard CJ, Frisen J, Sjögren AM, and Fried K Substance P, calcitonin gene-related peptide, growth-associated protein-43, and neurotrophin receptor -like immunoreactivity associated with unmyelinated axons in feline ventral roots and pia mater. J Comp Neurol 1994:339:365-386.
35. Roos BA, Fischer JA, Pignat W, Alander CB, and Raisz LG Evaluation of the in Vivo and in Vitro calcium-regulating actions of noncalcitonin peptieds produced via calcitonin gene expression. Endocrinology 1986:118:46-51.
36. Rosenfeld MG, Mermod JJ, Amara SG, and et. al. Production of a novel neuropeptide encoded by the calcitonin gene via tissue-specific RNA processing. Nature 1983:304(14):129-135.
37. Rozsa AJ, Guss RB, Beuerman RW Neural remodeling following experimental surgery of the rabbit cornea. Invest Ophthalmol Vis Sci 1983:24:1033-1051.
38. Saito I, Ishii K, Hanada K, Sato O, and Maeda T Responses of calcitonin gene-related peptideimmunopositive nerve fibers in the periodontal ligament of rat molars to experimental tooth movement. Archs Oral Biol 1991:36(9)

:689-692.
39. Sigrist S, Franco-cereceda A, Muff R, and et. al. Specific receptor and cardiovascular effects of calcitonin gene-related peptide. Endocrinology 1986:119:381-389.
40. Silverman JD, Kruger L Calcitonin-gene related peptide immunoreactive innervation of the rat head with emphasis on specialized sensory structure. J Comp Neurol 1989:280:303-330.
41. Stjärne P, Lundblad L, Anggard A, Hökfelt T, and Lundberg JM Tachykinins and calcitonin gene-related peptide: co- exitence in sensory nerves of the nasal mucosa and effects on blood flow. Cell Tissue Res peptide 1089 :256:439-446.
42. Tashiro T, Takahashi O, Satoda T, and et. al. Distribution of axons showing calcitonin gene-related peptide and/or substance P-like immunoreactivity in the sensory trigeminal nuclei of the cat. Neurosci Res 1991: 11:119-133.
43. Taylor PE, Byers MR, and Redd PE Sprouting of CGRP nerve fibers in response to dentin injury in rat molars. Brain Res 1988:461:371-376.
44. Waldo CM, Rothblatt JM Histologic reponse to tooth movement in the laboratory rat. J Dent Res 1954: 33(4): 481-486.

-ABSTRACT-

The changed expression of CGRP immuno-positive nerve in the periodontal ligament of rat molar during tooth movement

Jung-Ok Sung*, Hyo-Sang Park**, Yong-Chul Bae***, Jae-Hyun Sung*

* *Department of Orthodontics, College of Dentistry, Kyungpook National University*
** *Department of Dental College of Medicine, Keimyung University*
*** *Department of Oral Anatomy, College of Dentistry, Kyungpook National University*

Bone resorptiion was predominate in compression site, bone formation in tension site of periodontal ligament during tooth movement. The biologic response at compressiion site was different from tension site. Thus the CGRP immuno-positive nerve fiber will respond differently to mechanical force according to the area(compression or tension site).

The purpose of this study was to investigate this response of CGRP immuno-positive nerve fiber in the periodontal ligament according to the duration of applied force and the area (compression or tension site) during experimental tooth movement.

The experimental animals were 7 week old male rat (approximately 200 gm). The orthodontic force was applied mesially to the right maxillary molar using the Ni-Ti coil spring during 12hours, 1, 3, 7, and 12days. Immunohistochemical staining using antibody against CGRP was performed after sacrifice.

The results were as follows.

The CGRP immuno-positive nerve bundle showed reduced immunoreactivity and nerve fibers reduced in density after application of orthodontic force for 12 hours and 1day.

The CGRP immuno-positive nerve fibers showed many thin branches at the apical periodontal ligament after application of force for 3 days as compared with normal. The tension site in the apical periodontal ligament showed more branches than the compression site.

In 7 day group, the CGRP immuno-positive nerve fibers increased in terms of the number and had many thin branches in the apical periodontal ligament. The tension site had more branches than the compression site.

In 12 day group, the CGRP immuno-positive nerve fibers showed similar distribution to normal control at compression site of apical periodontal ligament, but the fibers at the tension site increased in number.

The CGRP immuno-positive nerve fibers showed more increased at tension site than compression site after application of orthodontic force. Therefore it seems to have some relation to the bone remodeling besides the local inflammatory process.

KOREA. J. ORTHOD. 1996 ; 26 : 581-590

※ **Key words**: CGRP immuno-positive nerve fiber, local inflammatory process, bone remodeling