

# 唾 液 의 lactoperoxidase

서울대학교 齒科大學 生化學教室

鄭 泰 英

唾液腺과 그 分泌物인 唾液은 많은 生理學的인 機能을 가지고 있는데 唾液은 消化過程에서 食物을 咀嚼時 水分을 공급하며, 嚥下作用時는 潤滑劑로서, 또한 食物을 分解시키는 役割을 한다.

실제로 食物의 化學的 分解는 唾液내에 있는 消化酵素에 의해 이루어지는 것이다. 두번째 役割은 保護作用으로서 口腔粘膜을 습기있고 미끄럽게 하여 唾液내에 있는 化學的 因子에 의해 損傷받는 것으로부터 保護할 수 있다. 또 세번째 役割은 唾液腺이 iodide, thiocyanate, mercury, antibiotics와 alkaloid 등 여러 物質의 分泌에 관여한다.

끝으로 唾液腺은 內分泌系와 같은 役割도 한다. 唾液이 生物學的 觸媒를 한다는 첫 論議는 1809년에 당시 醫藥品으로 使用되었던 樹脂의 一種인 Guaicum이 口腔내와 牛乳에서 푸른 색으로 변했다는 것이다. 어쨌든 牛乳은 加熱되면 그 색깔은 잃어버리게 된다. 그후 Guaicum의 酸化는 어떤 酵素에 의해 촉매되는 것이 알려졌는데 이 酵素는 酸化하는 데  $H_2O_2$ 를 必要로 하는 酵素로서 peroxidase라 불리게 되었다. 그이후 牛乳에 酵素는 산발적으로 研究되었는데 이 시기에는 牛乳의 peroxidase는 白血球의 peroxidase와 同一하다고 하였었다.

Theorell과 Akesson(1942)이 牛乳의 peroxidase와 白血球의 peroxidase가 다르다는 것을 發表한 것은 1940년대 이후로 최초로 이 酵素를 精製하여 性狀이 어느 정도 알려졌다. 그후 이 牛乳내의 酵素를 lactoperoxidase라 命名하였다. Polis와 Schmukler(1953)가 이 酵素를 分離하여 鹽基性蛋白質이라는 것을 알게 되었다.

lactoperoxidase는 水素供與者로서 作用하는 많은 基質을 酸化하나 SH基를 갖은 化合物을 酸化치 않고 hemoglobin과 catalase에 의해 형성되는 sulf-hemoglobin과 sulf-catalase에 유사한 sulf-lactoperoxidase를 형성한다.

**Iodine 代謝에 lactoperoxidase의 役割:** 甲狀腺 hormone이 甲狀腺의에서 生合成에 關하여 많은 논쟁이 報告되어 있다.

Evans et al. (1960)와 Evans et al. (1966) 등은 triiodothyronine이나 thyronine의 甲狀腺外에서 合成이 된다고 間接的으로 證據를 보였는데, 이것이 비특 活性 hormone의 合成이라 보기에는 모호한 점이 있지만 乳腺이나 唾液腺에서 tyrosine의 iodine誘導體를 合成한다는 것은 매우 가치가 있는 것이다. Burgen과 Emmelin(1961)은 개에서 唾液腺에 의해 分泌된 전체 iodide의 50% 이상이 protein-bound라 하였고 iodide의 形態는 처음에 monoiodo-, diiodotyrosine으로 발견되었고 잇따라 蛋白質에 peptide bond로 結合된 것이 發見되었다. 또 비슷한 iodoprotein이 牛乳에 석도 發見되었다. 그로 沃度化는 唾液腺과 Harderian gland, 또 淚腺에서도 일어나는 것으로 알려져 있다.

lactoperoxidase는 다른 peroxidase보다도 더 급격히 iodide의 酸化를 촉매하며 tyrosine과 monoiodotyrosine의 沃度化도 대단히 급격히 진행시킨다. 또한 thyroglobulin의 沃度化, 즉 monoiodothyronine(MIT), diiodotyrosine(DIT)와 triiodothyronine( $T_3$ )+thyroxine( $T_4$ )를 형성하는데도 lactoperoxidase에 의해 촉매될 수 있다. 甲狀腺外의 iodide代謝서 어느 制限된 因子는 iodide가 唾液腺의 導管細胞에 농축되어 있다는 것일 것이나 peroxidase는 腺胞細胞에 존재한다는 事實이다. 그래서 高濃度에서만이 iodide가 沃度化에 基質로서 이용될 수 있게 된다.

沃度化는 iodide와 lactoperoxidase, 그리고 그의 蛋白質이 分泌되는 管內에서 일어나게 될 것이다. 또한 유사한 機轉이 乳腺에서도 일어난다.

**細菌增殖抑制에 Lactoperoxidase의 役割:** 침, 눈물 및 牛乳에 細菌增殖을 抑制하는 여러 가지 蛋白質抑制因子가 존재한다는 것이 오랜동안 많은 學者에 의해 구명되어 왔으며, 이들 抑制因子中 하나가 lysozyme

으로 알려져 있다. 최근 lactoperoxidase 도 細菌增殖의 抑制에 關여한다는 것이 Auclair 와 Portmann (1959), Jago 와 Morrison (1962) 등에 의해 밝혀졌다. 이들은 lactoperoxidase 가 우유에서처럼 唾液내에 존재한다는 것이 밝혀지기 전에는 peroxidase 의 作用을 抗菌作用과 連關시키여 생각하였으나 lactoperoxidase 의 추출물을 적용함으로써 직접 細菌增殖을 抑制하는 것을 觀察할 수 있었다. 또한 Nickerson et al. (1957)은 唾液내에서 peroxidase 와 anticariogenic activity 와의 關係를 究明하려 시도하였었는데 그 결과가 모호한 점이 있다. 그러므로 lactoperoxidase 가 細菌增殖에 作用하는 抑制機轉을 구명하는 것이 선결 문제라 하겠다.

실험적으로 Morrison, Steele (1968) 등은 우유내에서 *Streptococcus cremoris* 972 의 增殖은 bovine lactoperoxidase 의 濃度가 증가함에 따라 점진적으로 抑制가 일어난다. lactoperoxidase 는 微生物增殖을 抑制하는 직접 化學物質로 作用하는 것이 아니고 enzymatic peroxidation 이 作用하는 것으로 추측된다. 이와 같은 機轉은 lactoperoxidase 가 必要치 않는 곳에서 培地에 peroxide 를 必要로 하게 될 것이다.

*S. cremoris* 972 에 의한  $H_2O_2$  의 生成은 많은 接種物에 공기를 다량 공급함으로써 일어날 수 있다. lactoperoxidase 에 의해 *S. cremoris* 972 의 增殖을 抑制하는데  $H_2O_2$  의 重要性이 peroxide 를 촉매적으로 분해시키는 catalase 에 의해 抑制가 일어나지 않는다는事實에 의해 확인되었다. catalase 와 horseradish peroxidase 는 lactoperoxidase 에 의해 일어나는 抑制를 일어나지 못하게 한다. 이들 酵素의 濃度增加는 lactoperoxidase 의 濃度增加에 의해 抑制가 일어나지 못하게 유지된다는 사실은 이 모든 酵素가  $H_2O_2$  에 대해 競争한다고 추측할 수 있다. 더욱  $H_2O_2$  가 細菌增殖을 抑制하는데 要求된다는 것은 lactoperoxidase 가 酵素가 없는 상태하에서는 細菌增殖을 抑制치 못한다는 것을 觀察한 例가 있어 *S. cremoris* 가 嫌氣性으로 자랄 때는 lactoperoxidase 에 의한 抑制가 일어나지 않지만 好氣性 狀態에서는 微生物의 增殖은 抑制가 일어난다는 것이다. 최근 Klebanoff 와 Luebke (1965), Reiter et al. (1964)에 의하면 lactoperoxidase inhibitory system 은 우유와 唾液의 正常成分인 thiocyanate 와 대치될 수 있는 dialyzable component 를 함유한다고 하였다. bovine lactoperoxidase 나 thiocyanate 는 단독으로는 抑制가 일어나지 않지만 두 成分이 함께 作用하면 抑制效果가 증가됨을 알 수 있고 最大抑制는 역시  $H_2O_2$  를 必要로 하게 된다.

lactoperoxidase system 에 thiocyanate 의 役割: Oram 과 Reiter (1966)는 lactoperoxidase 가 thiocyanate 의 酸化를 도와 그 酸化物인 sulfate, cyanate, ammonia, 그리고 微生物에 抑制적으로 作用하는 中間代謝物等을 生成할 수 있다고 가정하였다. 또 Morioka 와 Zeldow (1965) 등에 의하면  $H_2O_2$  에 의하여 thiocyanate 를 酵素가 作用치 않고 酸化하여 같은 生成物을 얻을 수 있다 하였다. Morrison (1968) 등은 *S. cremoris* 972 를 培養한후 上清液에 존재하는 lactoperoxidase 에 thiocyanate 의 役割을 觀察하였는데 thiocyanate 는 희석溶液에서 bovine milk lactoperoxidase 에 매우 安定된 效果를 갖고 있다. 희석 lactoperoxidase 혼자는 細胞가 없을지라도 不安定하고 細胞가 增加되어도 活性의 減少가 일어난다. 그러나 thiocyanate 는 實驗한 細胞의 모든 濃度에서 lactoperoxidase 의 非活性을 防止할 수 있다. 다른 實驗에서  $2.5 \times 10^{-9}M$  lactoperoxidase 은  $H_2O_2$  와 thiocyanate 가 存在할 때는 *S. cremoris* 972 의 增殖을 抑制하기 충분하다는 것이고, 더 농축된 溶液( $25 \times 10^{-9}M$ )에서는 더욱더 安定하다는 것이다. 또 lactoperoxidase 가 *S. cremoris* 972 를 30分間 培養하는 동안 細菌과 結合되고 細菌이  $H_2O_2$  와 thiocyanate 를 含有하지만 lactoperoxidase 가 첨가되지 않은 신선한 培地에 옮겨질 때도 增殖을 抑制하는 것을 觀察하였다.

또한 實驗에서 lactoperoxidase 가 단지 酸化生成物이 增殖培地로 擴散해 들어갈 수 있도록 dialysis bag 에 있거나 增殖培地에 부유할 때는 lactoperoxidase system 은 增殖을 抑制치 않는다는 것을 확인했다. 이는 抑制가 일어나기 전에 lactoperoxidase 가 細胞에 吸着된다는 것을 암시한다. 이런 結果는 細菌溶血因子로서 사람의 血液으로부터 streptococci 와 lactobacilli 의 吸着을 研究한 Green (1966)의 結果와 比較되어 질 수 있다. 이 因子는 NaCl 의 酸性溶液에서 溶出될 수 있고 電氣泳動에서  $\gamma$ -globulin 으로 확인되었다. 增殖抑制가 lactoperoxidase 에 의해 촉매된 酸化物에 의해 일어났다면 그것은 thiocyanate 酸化에 독특한 生成物은 아닐 것이다. 왜냐하면 Klebanoff 와 Luebke (1965)가 iodide ion 이 增殖抑制機轉에서 thiocyanate 와 置換할 수 있다는 것을 보여주었기 때문이다. 또한 1-phenyl-2-thiourea 나 thioacetanilide 가 lactoperoxidase 抑制機轉에서 thiocyanate 와 置換할 수 있다는 것을 發見하였다.

pig salivary lactoperoxidase 는 전체 lactoperoxidase 가 鹽基로서 使用되었을 때는 bovine milk lactoperoxidase 보다 *S. cremoris* 972 에 보다 강력한 抑制

物로 作用하였으려 더욱이 salivary lactoperoxidase 는 抑制가 catalase 에 의해 상쇄되지만 thiocyanate 나  $H_2O_2$  없이도 대단히 抑制의으로 作用한다.

이런 강력한 抑制作用은 末知의 蛋白質이나 吸收된 cofactor 에 의해 야기되는 것일 것이다. 사용된 pig 酵素는 bovine 酵素보다 순수치 못하여 salivary lactoperoxidase 의 抑制作用은 末知의 蛋白質과 相互作用으로 일어날 가능성이 있다.

lactoperoxidase 의 抑制作用을 究明하는 중요한 이유는 이 酵素가 齒牙齶蝕을 이끄는 細菌을 調節하는데 어떻게 관여하는가를 결정하기 때문이다. 細菌作用으로 齒牙齶蝕이 발생한다는 設은 오래전부터 알려져 왔으며, 최근 몇 學者들은 어떤 傳染性因子가 齒牙齶蝕과 관련이 있고 더욱 齒牙齶蝕에 특이하게 작용하는 streptococcus 에 의해 일어날 수 있다는 것을 추측하였다. 그래서 唾液에 존재하는 因子들, 즉 微生物의 增蝕을 抑制하는 因子들에 큰 興味가 있는 것이다. Jordan (1965) 등은 hamster 와 rat 에서 齒牙齶蝕을 이끄는 streptococci 를 分離하였고 이들 菌株가 bovine lactoperoxidase 에 의해 거의 抑制效果를 얻지 못하였으나 pig salivary lactoperoxidase 에 의해서는 비록 catalase 에 의해 抑制가 상쇄되었지만 實驗한 4種에서 增蝕을 抑制하였다. 이 結果로 lactoperoxidase 가 齒牙齶蝕을 이끄는 細菌을 調節한다는 것을 최초로 지적한 것이 될 것이다. 그래서 lactoperoxidase 의 殺菌作用은 적어도 2 因子에 의해 일어나는데, 첫째, 微生物에 의해 生成되거나 外部로부터 공급되는  $H_2O_2$ 이고, 둘째는 우유, 침 및 눈물의 正常構成成分으로 thiocyanate 이다. 비록 그 役割이 분명치는 않지만 lactoperoxidase 의 安定에 작용한다는 것이 부분적으로 인정되었다.

### 結 論

bovine lactoperoxidase 는 乳腺, 淚腺, 唾液腺 및 Harderian gland 에 국한되어 있다. 唾液腺에서 酵素는 단지 腺胞細胞의 microsomal fraction 에만 존재한다. lactoperoxidase 는 horseradish, myelo- 및 thyroid peroxidase 보다는 더 iodide 의 酸化를 촉매하고 더욱 tyrosine 이 monoiodotyrosine 과 diiodotyrosine 으로 沃度化를 촉매한다. 또한 蛋白質의 沃度化를 촉매하여 monoiodotyrosine, diiodotyrosine, triiodothyronine, 및 thyroxine 을 生成하게 된다. 이런 점으로 唾液腺내에 있는 酵素는 iodide 의 甲状腺外의 代謝에 관여할 것이라고 結論될 수 있다. 導管細胞는 iodide 를 농축하고 腺胞細胞는 酵素를 함유하고 있다는 것은 이 系統에서 沃度化는 細胞밖에서 일어나며 이들 腺의 導管 안에서 일어날 것이라 지적할 수 있다.

lactoperoxidase 는 눈 및 口腔내에서 微生物增殖調節에 중요한 役割을 하는 것으로 매우 낮은 濃度の lactoperoxidase 도 rat 에서 齒牙齶蝕을 유발하는 수종의 streptococci 를 위시하여 bacilli 와 cocci 의 增殖을 抑制하는 것이다. thiocyanate 와  $H_2O_2$  는 bovine la-

ctoperoxidase 의 細菌增殖에 抑制의으로 作用하는데 필요한 것으로 알려져 있다. 또 lactoperoxidase 의 抗微生物作用은  $H_2O_2$  를 이용하기 위하여 이 酵素와 경쟁하는 catalase 에 의해 그 作用이 제한을 받게 된다. 이는 lactoperoxidase 의 抑制效果는 이의 peroxidase 作用의 결과임을 나타내는 것으로 이 系統에서 thiocyanate 의 役割은 희석 lactoperoxidase 를 安定시키는 것에 한정시킬 수 있다. 그러나 면역학적으로 관계가 있으나 bovine lactoperoxidase 와는 同一하지 않은 pig lactoperoxidase 는 비록 thiocyanate 가 없더라도 細菌增殖에 강력한 抑制物로 作用한다.

소의 胎兒發育중 唾液腺의 lactoperoxidase 는 태어날 때까지 胎兒에 존재치 않고 出生후 몇일간은 成人의 約 10~20%에 이르고 6個月 이내에 成人値에 달하게 된다. 그래서 우유의 lactoperoxidase 는 口腔微生物을 조절하기 위하여 존재하게 되며 酵素는 성숙함에 따라 唾液에 공급하게 된다.

### 參 考 文 獻

- 1) Alexander, N.M.: J. Biol. Chem. 234 : 1530, 1959.
- 2) Auclair, J.E., and Portmann, A: Lait 39 : 496, 1959.
- 3) Burgen, A.S.V., and Emmelin, N.G: Physiology of the salivary glands. Edwards Arnold, London, 1961.
- 4) Evans, E.S.: Endocrinology 67 : 635, 1960.
- 5) Evans, E.S.: Endocrinology 78 : 983, 1966.
- 6) Fitzgerald, R.J.: J. Dent. Res. 42 : 549, 1963.
- 7) Green, G.E.: J. Dent. Res. 45 : 882, 1966.
- 8) Jago, G.R., and Morrison, M.: Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. 111 : 585, 1962.
- 9) Jordan, H.V.: Ann. N.Y. Acad. Sci. 131 : 903, 1965.
- 10) Keys, P.H.: Arch. Oral Biol. 1 : 304, 1960.
- 11) Klebanoff, S.J. and Luebke, R.G.: Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. 118 : 483, 1965.
- 12) Morioka, T., and Zeldow, B.: J. Dent. Res. 44 : 850, 1965.
- 13) Morrison, M. and Stelli, W. F.: in Philip Person, Biology of Mouth, p. 89. Am. Assoc. for Advans. of science. Washington D.C., 1968.
- 14) Nickerson, J.F., Kraus, F.W., and Peny, W.I.: Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. 95 : 405, 1957.
- 15) Oram, J.D., and Reiter, B.: Biochem. J. 100 : 373, 1966.
- 16) Polis, B.D., and Shmukler, H.W.: J. Biol. Chem. 201 : 475, 1953.
- 17) Reiter, B., Pickering, A., and Oram, J.D.: Proc. Intern. Symp. Food Microbial. 4th pp. 279, 1964.
- 18) Robbins., and Rall, J.E.: Physiol. Rev. 40 : 415, 1960.
- 19) Theorell, H., and Akerson, A.: Arkiv kemi Mineral. Geol. 16A : 1, 1942.