

치아발육에 있어서 Collagen 및 무기질 변동에 미치는 영향*

서울대학교 치과대학 생화학교실

정 태 영

EFFECTS OF TEETH DEVELOPMENT ON THE COLLAGEN AND MINERALS IN RAT DENTIN

Tai Young Chung

Dept. of Biochemistry, College of Dentistry, Seoul National University

.....>>Abstract<<.....

This present investigation was concerned with the content of collagen and minerals of incisor and molar dentin in rats of different ages.

The results obtained were summarized as follows.

1. There was no remarked change in the content of collagen-hydroxyproline of incisor and molar dentin according to days after delivery.
2. The Ca content in incisor dentin rose from approximately 15.4% of the dry weight in 7 days after delivery to 21.1% in 22 days while that in molar dentin from 17.6% in 7 days to 19.7% in 22 days.
3. The P content in molar dentin rose from 8.5% in 7 days after delivery to 11.65% in 22 days, while in incisor rose from 8.05% in 7 days to 11.85 in 22 days after delivery.

— 목 차 —

- I. 서 론
- II. 실험재료 및 방법
- III. 실험결과
- IV. 고 찰
- V. 결 론

참고문헌

I. 서 론

지난 반세기동안 생물학적인 석회화 과정에 관한 연구가 많이 행하여져 왔으나 아직도 가장 어려운 문제로 되어 있다.

상아질에 유기성분이 있다는 것은 1778년에 영국의 해부학자 John Hunter가 상아질을 태우면 검게 된다는 것과 산으로 탈회하면 연골과 같은 느낌이 든다는데서

* 本研究은 1974年度 文敎部 研究造成費에 依하여 이루어 졌음.

확인되었고¹⁾ 그후 치아의 석회화 과정에 관련하여 유기성분 특히 Collagen이 중요한 역할을 하고 있다는 것이 알려져 화학적으로나 조직학적으로 치아조직의 Collagen에 관한 연구가 진행되어 왔다. 석회화된 조직에는 정연히 배열된 불용성의 유기물질이 기질로서 존재하는 것이 특징적이다. 이 유기물질의 성분들이 무기염의 침착의 유도, 조절 및 가능한 참여가 흥미로와 아직도 규명하여야 할 많은 문제들이 남아 있다.

특히 Collagen에 관해 Leaver 등(1971)²⁾은 고대 Egypt인의 치아상아질에서 Collagen의 존재를 확인하였고 Levine (1971)³⁾은 상아질에서 Collagen의 주성분인 hydroxyproline을 정량하여 치수에서 amelodentinal junction으로 갈수록 증가하는 것을 관찰하였다. 또한 Battistone과 Burnett (1956)⁴⁾은 탈퇴한 상아질은 약 14% 정도의 hydroxyproline을 함유하고 있다고 하였으며 Leaver와 Jones (1971)⁵⁾은 상아질의 Collagen과 non-collagen nitrogen을 비교 관찰한 바 있다.

본 실험은 치아 발육시 치아중배엽에서 발생하는 상아질의 기질이 Collagen 및 기타 유기질에 의해 형성된다는 조직화학적으로 규명된바 있으므로 이를 생화학적으로 정량적인 규명을 하기 위해 치아발육에 따른 무기질의 변동과 아울러 Collagen 특히 hydroxyproline을 정량하여 의의있는 결과를 얻었다.

II. 실험재료 및 방법

1. 실험동물

같은 조건하에서 사육된 rat에서 분만한 신생 rat를 분만후 각시기에 따라 각 시기의 rat에서 치아를 합해 시료로 삼는다. 각 rat의 전치 및 구치로 구분하여 사용하였다.

2. 치아의 준비

전치 및 구치로 구분하여 각 시기에 채취하여 각 시기별로 pooling하여 mortar와 pestle을 사용하여 분말화하였으며 이 분말화된 조직을 105°C에서 24시간 가열하여 탈수시킨후 건조중량을 측정하였다. 이중 상아질을 분리키 위해 Bromform acetone을 사용하는 Manly와 Hodge의 부유법¹⁰⁾을 이용하여 상아질과 법랑질을 분리하였다.

3. 분석방법

Hydroxyproline의 정량

Hydroxyproline은 Woessner(1961)⁶⁾ 법으로 정량하였다. 즉 시료를 6N HCl에 넣고 시험관을 봉관한 후 105°C에서 18시간 가수분해후 2.5N NaOH로 중화하여

적절량으로 회석하여 hydroxyproline 시료로 삼았다.

적절히 회석한 가수분해액을 chloramine T를 넣어 hydroxyproline을 산화후 20분간 실온에 방치한다. 그후 3.15M Perchloric acid를 넣어 chloramine T를 파괴하고 20% p-dimethylaminobenzaldehyde액은 가해 60°C water bath에서 20분간 방치후 557m μ 에서 O.D를 읽어 표준용액에 대해 환산하였다.

Ca, Mg, 와 Zn의 정량

각시기의 건조시료를 2ml 3N HCl에 용해시켜 25ml로 최종용량이 되게 H₂O로 조절하였다. 필요따라 측정범위가 되도록 0.36N HCl로 회석하여 정량시료로 사용하였다.

그후 atomic absorption spectrophotometer (Perkin-Elmer Co. Model 303)를 이용하여 Ca, Mg, Zn등 각 mineral의 정량방법⁷⁾에 따라 정량하였다.

Phosphorus의 정량

각시기의 무기인은 Fiske-Subbarow법⁸⁾에 의해 정량하였다.

III. 실험 결과

1. Hydroxyproline의 변화

신생 rat의 분만후 각시기에 따르는 치아상아질의 hydroxyproline은 전치와 구치로 분리하여 측정한 결과 Table 1에서 보는 바와 같다.

즉 전치상아질에서 분만 7일에 건조중량당 1.60mg%이고 분만후 9일에 1.53mg%이며 분만 22일에 1.53mg%로 큰 변동을 보이지 않고 있으며 성숙 rat상아질에서도 1.54mg%로서 큰 차를 보이지 않고 있다. 또한 구치에서는 분만후 7일에 1.48mg%이고 분만 9일에는 1.60mg%이나 분만후 15일에는 1.07mg%로서 감소를 보이고 있고 분만후 22일에는 회복되어 1.23mg%를 나

Table 1. Amount of the hydroxyproline in dentin from rats of different ages.

Days after delivery	incisor*	molar*
7	1.60	1.48
9	1.53	1.60
15	1.50	1.07
22	1.53	1.23
Adult	1.54	1.52

* g/100g dry weight

Table 2. Amounts of Ca, P, Mg, and Zn in incisor dentin from rats of different ages.

Days after delivery	Ca*	P*	Mg*	Zn*
7	17.6	8.5	0.28	0.102
9	18.3	9.6	0.33	0.075
15	20.9	11.3	0.58	0.69
22	19.70	11.85	0.65	0.063
Adult				

* %/dry weight

Table 3. Amounts of Ca, P, Mg, and Zn in molar dentin from rats of different ages.

Days after delivery	Ca*	P*	Mg*	Zn*
7	15.4	8.05	0.22	0.075
9	17.76	8.85	0.22	0.086
15	22.10	11.63	0.32	0.101
22	22.10	11.65	0.36	0.097
Adult	22.8	11.85	0.39	0.094

* %/dry weight

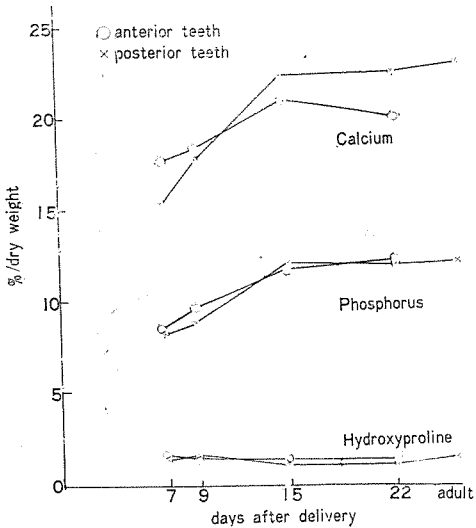


Fig. Changes in Hydroxyproline, Ca and P contents with days after delivery

타내며 성숙치아에서도 9일과 유사한 1.52mg%를 함유하고 있어 큰 변화를 보이고 있다. 이로서 구치상아질은 연령이 증가함에 따라 hydroxyproline양의 감소를 보여 Collagen에 성숙됨에 따라 무기질이 침착되는 것

으로 추측할 수 있다.

2. 무기질의 변화

① Ca과 P가 치아발육에 따르는 변화

신생rat의 분만후 각시기의 치아상아질 Ca과 P의 변화는 Table 2, Table 3과 Figer에서 보는 바와 같다.

즉 전치에 있어서 분만 7일에는 Ca이 건조중량당 17.6%이고 P는 8.5%로서 Ca/P비가 2.07 정도이고 분만 9일은 Ca이 18.3%이고 P는 9.6%이며 분만 15일은 20.9%이고 P는 11.3%이었으며 성숙치아상아질은 Ca이 22.8%이며 P가 11.85%로서 Ca/P비가 1.92 정도이었다.

구치에 있어서는 건조중량당 분만 7일에 Ca이 15.4%이었고 P가 8.75%이며 Ca/P비는 약 1.91이었고 분만 9일에 Ca이 17.76%이었고 P가 8.75%이며 Ca/P비는 약 2.03이었다.

분만 15일은 Ca이 22.1%이고 P가 11.65%로서 Ca/P비는 1.89로서 분만 22일과 같으며 성숙 rat치아상아질은 Ca이 22.8%이고 P가 11.85%로서 Ca/P비가 1.92를 나타내고 있다. 이와같이 연령이 증가함에 따라 Ca과 P의 양이 약간씩 증가하나 성숙치아와는 큰 차를 보이고 있지 않고 있다.

② Mg과 Zn에 미치는 영향

Table 2와 Table 3에서 보는 바와 같이 Mg은 구치에 있어서 시간이 경과함에 따라 분만 7일에 0.22%이고 분만 22일에 0.36%로 증가하였으며 성숙치아에 있어서 약 0.39%를 나타내고 있다.

전치의 경우 약간 많은 양을 보여 분만 7일에 0.28%이고 분만 22일에 0.65%를 나타내고 있다.

Zn는 전치에서 분만 7일에 0.102%로서 제일 많고 분만 22일에 0.06%로 감소되었고 구치에서는 분만 7일에 0.075%이던 것이 증가되어 분만 15일에 0.101%로 되고 22일에는 0.097%이었다.

IV. 고 찰

치아발육에 있어서 기질 Collagen이 형성되고 이에 따라 석회화작용이 일어나는 현상을 생화학적 생물학적으로 만족스럽게 설명할만한 설은 아직도 없어 논의의 대상이 되고 있는 것이다.

그래서 본 연구에 있어서는 치아발육시에 상아질의 유기질의 주성분이 되는 Hydroxyproline양을 측정하여 Collagen의 변동을 관찰하였고 또한 이에 치아가 성숙됨에 따라 일어나는 석회화 과정을 구명키 위해 무기질 특히 Ca과 P를 정량하였다.

상아질 유기질의 대부분은 Collagen으로 구성되어

있고 그의 amino acid 조성은 풀이나 피부에서 볼 수 있는 Collagen과 구조나 전자현미경상으로 유사하며 Neuman과 Logan (1950)⁹⁾에 의하면 상아질의 hydroxyproline함량도 Collagen의 성질을 갖는다고 하였다. 또한 Piez(1959)¹¹⁾는 상아질 Collagen은 lysin:hydroxylysine의 비가 1:1이며 풀은 1:9의 비를 갖는다고 하였다.

Armstrong(1961)¹²⁾은 성숙상아질의 hydroxyproline은 이온교환수지를 이용하여 측정된 결과 탈회시료에서 약 11.99%를 함유한다 하였고 齊藤(1963)¹³⁾은 탈회치 않은 상아질 100g중에 건조중량 %당 2.24%를 함유한다 보고하고 있다. 본 실험에서는 건조미탈지상태로 측정된 결과로서 성숙상아질에서 hydroxyproline이 1.32%로서 齊藤의 결과보다 적은 양이 검출되었다. 이는 건조조건, 가수분해조건등의 실험상의 차이에 의한 것 같다.

치아발육에 따른 hydroxyproline은 구치에 있어서 시간변화에 따라 약간 저하되는 상을 보이나 완전 성숙시는 분만후 9일과 유사해 이는 아직도 치수에 연해있는 odontoblast가 활발히 Collagen을 합성함으로써 치아상아질기질의 turn over를 하고 있다고 사료된다.

이에 따른 Ca과 P의 변화는 초기에는 건조중량당 17.6%와 8.5%이지만 시간이 경과함에 따라 22.8%와 11.85%로 증가되어 석회화가 많이 진행된 것을 나타내고 있다. 또한 성숙상아질에서는 Ca과 P가 각각 22.81%와 11.85%로서 Ca/P가 1.92를 나타내고 있다.

Leaver(1971)은 사람상아질의 Collagen과 비 Collagen Nitrogen을 정량하여 불용성 Collagen은 약 0.4%를 점하고 Non-Collagen Nitrogen은 기질의 약 4%를 점한다 하였다.

Battistone(1956)⁴⁾은 EDTA로 탈회한 상아질의 단백질을 추출하여 이차원여지 Chromatography로 분리하여 hydroxyproline을 정량한 결과 14%가 존재한다 하였다.

또한 Levine(1971)³⁾은 상아질의 미량화학적성질을 연구할 목적으로 건전치아치관부상아질내 hydroxyproline을 분석결과 hydroxyproline이 치수근처의 약 50 $\mu\text{g}/\text{mm}^3$ 에서 amelodontinal junction의 약 80 $\mu\text{g}/\text{mm}^3$ 으로 증가함을 보고 했는데 이는 이부위에서 상아질 Collagen이 합성축적된 것이라 추측된다.

또한 三條(1963)¹⁴⁾은 건전상아질과 우식상아질의 amino acid조성을 측정결과 우식상아질에서 30.74%로서 건전상아질 16.85%보다 거의 배정도로 증가된 상을 나타낸다 하였다.

V. 결 론

신생백서가 분만후 시간에 따라 성장발육하는 치아상아질의 Collagen과 이에 따른 무기질을 관찰한바 의의 있는 결과를 얻어 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 치아발육에 따르는 Collagen 함량의 변동은 연령이 증가함에 따라 hydroxyproline이 별 변동이 없었다.
2. Ca 함량은 분만 7일에 구치 15.4%이고 22일에 22.1%로 증가하였고 전치는 분만 7일에 17.6%이고 22일에 19.7%이었다.
3. P는 구치에서 분만 7일에 8.5%이고 22일에 11.65%이며 전치는 7일에 8.05%이고 22일에 11.85%이었다.

REFERENCES

- 1) Simllie, A.C.: The chemistry of the organic phase of teeth, In "Biological mineralization" Ed. by Zipkin, I. p. 139, Wiley Interscience Co. 1973.
- 2) Leaver, A.C., and Birch, R.H.: Aspects of chemistry of bone and dentin collagen from ancient Egyptian remains. J. Dent. Res. 50: 652, 1971.
- 3) Levine, R.S.: Distribution of hydroxyproline in human coronal dentin. J. Dent. Res. 50: 696, 1971.
- 4) Battistone, G.C. and Burnett, G.W.: The amino acid composition of human dentinal protein. J. Dent. Res. 35: 255, 1956.
- 5) Leaver, A.G. and Jones, I.L.: Collagen and noncollagenous nitrogen in human dentin. J. Dent. Res. 50: 1189, 1971.
- 6) Woessner, J.F.: The determination of hydroxyproline in tissue and protein samples containing small proportions of this imino acid. Arch. Biochem Biophys. 93: 440, 1961.
- 7) Perkin Elmer Co. Analytical book, Atomic absorption spectrophotometry 1973.
- 8) Fiske-Subbarow: In Oser, B.L.(14th ed.); Hawk's Physiological Chemistry, New York, McGraw-Hill Co. 1965. p.1113.
- 9) Neuman, R.E. and Logan, M.A.: The determination of hydroxyproline. J. Biol. Chem.

