

Vitamin A가 白鼠骨의 有機質 組成에 미치는 影響에 關한 實驗的 研究*

서울大學校 大學院 齒醫學科 口腔病理學 專攻
(指導教授 趙 漢 國)

魚 允 海

— 목 차 —

- I. 서 론
- II. 실험재료 및 방법
 - 1) 실험동물
 - 2) 시료의 준비
 - 3) 분석방법
- III. 실험성적
- IV. 고 찰
- V. 결 론
- 참고문헌
- 영문초록

I. 서 론

結締組織의 범주에는 軟骨, 섬유성 조직, 骨, 치아 등이 속하겠는데, Orten¹⁾은 이 결체조직을 基質내에 매몰된 不溶性 단백질 섬유 조직이라고 정의했다. 결체조직의 기질내에는 점액다당류가 단백질과 결합된 형태로 존재하고, 또한 주성분으로서 collagen이 매몰되어 있으며, 그밖의 몇가지 유기물질이 소량 존재한다.

Hess²⁾는 점액다당류 중 hexosamine 백분율을 소의 氣管과 치아 상아질에서 비교관찰하였다. Brudevold³⁾은 사람의 상아질과 骨의 有機質 組成 중 단백질, collagen, 점액다당류의 함량을 연구했다. vitamin A가 이들 중요 유기질의 조성에 미치는 영향은 vitamin A가 생화학적 조성에 미치는 영향에 관한 연구 자체가 아직 미흡하다는 관점에서 보면 일말의 究明한 의의가 있다고 하겠다.

Vitamin A의 결핍증을 비교적 흔히 볼 수 있음은 이 vitamin이 모든 vitamin 중에서도 가장 중요한 것 가운데

에 하나임을 뜻한다. vitamin A의 결핍증 못지 않게 vitamin A의 과잉에 의해 야기되는 vitamin A 과다증도 관심의 대상이 되고 있다. Karlsson⁴⁾은 vitamin過多症이 脂溶性 vitamin 중 A와 D에만 발생한다고 했다. Shafer 등⁵⁾은 이러한 vitamin A의 결핍이나 과잉시 발생하는 변화를 병리학적 및 조직화학적으로 연구하였으며, 그의 Harper⁶⁾, Cantarow 등⁷⁾도 이에 대한 언급을 하고 있다. vitamin A는 骨성장 뿐만 아니라 치아 발육에도 필수적이라고 Cantarow 등⁷⁾과 Bogert 등⁸⁾이 보고했다. 또한 Bogert 등⁸⁾은 vitamin A가 치은의 건강에도 중요하다고 했다.

저자는 백서 치밀골의 有機基質에서 단백질, hexosamine, 그리고 collagen의 주요 성분인 hydroxyproline의 組成比와 vitamin A에 대한 이들의 함량변화를 봄으로써 지금까지의 병리학적 및 조직화학적연구를 생화학적 구명과 관련시킬 목적으로 본 실험을 행한 바 다음의 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

II. 실험재료 및 방법

1) 실험동물

체중 약 80~100g의 건강한 백서 60마리에 10mg/kg의 vitamin A를 15일간 매일 투여하여 실험군으로 사용하였다. 대조군으로서 같은 조건에서 vitamin A를 투여하지 않은 백서를 사용하였다.

2) 시료의 준비

백서의 大腿骨과 脛骨을 분리한 뒤 병장고에 1주일 이상 보관한 다음 끄내어 부착 연조직, 골막, 해면골 및 骨髓를 말끔히 제거하고 잘게 썰어 acetone에 달가 병장고에 다시 보관한다. 3일 후 끄내어 조직을 가루로 분쇄하여 다시 acetone에 3일간 처리한 다음 ether로써 남은 수분을 증발시켜 완전히 말린다. 이렇게 준비

* 본 논문의 요지는 1975년도 대한구강병리학회에서 발표하였음.

된 시료의 일정량을 유리관에 넣어 6N HCl 1 ml를 가하고 봉관한 다음 105°C에서 18시간 가수분해시킨다. 용출된 액을 2.5N NaOH로써 중화시켜 적정량으로 희석한 다음 시료액으로서 사용한다.

3) 분석방법

(ㄱ) 총단백질의 정량

표준액으로서 bovine albumin을 사용해 Lowry⁹⁾법에 의해 측정한다. 시료액 10ml 중 1ml를 위해 5ml의 Folin-Ciocalteu phenol 시약과 실온에서 10분간 반응시킨 후 alkaline copper 용액과 다시 실온에서 30분간 반응시켜 750m μ 에서 比色定量한다.

(ㄴ) hydroxyproline의 정량

Woessner¹⁰⁾법에 의한다. 10배 희석한 시료액 2ml를 위해 1ml의 chloramine T를 가하고 20분간 실온에 방치함으로써 hydroxyproline을 산화시킨다. 다음에 1ml의 perchloric acid를 가해 chloramine T를 파괴한 뒤 5분 후 1ml의 *p*-dimethylaminobenzaldehyde 용액을 가해 60°C에서 20분간 반응시키고 557m μ 에서 비색정량한다.

(ㄷ) hexosamine의 정량

Rondle 등¹¹⁾은 acetylacetone과 *p*-dimethylaminobenzaldehyde를 사용하는 비색법을 제안했으나, 여기서는 Dische¹²⁾의 방법을 사용했다. 시료액 0.5ml에 5% sodium nitrite 0.5cc와 33% acetate 0.5cc를 가하고 10분간 방치하면 脫 amino化가 일어난다. 여기에 12.5% ammonium sulfamate 0.5cc를 가해 과잉의 아질산을 제거하고 30분간 반복해서 혼돈다. 다음에 5% HCl 2cc, 1% indole 용액 0.2cc를 차례로 가하고 10분간 끓는물에 담가둔 뒤 alcohol 2ml를 넣어 약간의 혼탁상을 제거하고 비색정량한다. 이는 먼저 492m μ 에서 정량한 吸光度에서 520m μ 의 흡광도를 뺀 값을 실험치로 정한다. 여기서 hexosamine만이陽의 값을 나타낸다. 표준액은 glucosamine HCl 용액을 사용한다.

III. 실험 성적

표 1에 적힌 바와 같다.

1) 총단백질 함량의 변화

실험군이 6.47mg%, 대조군이 7.89mg%로서 총단백질량은 vitamin A의 영향을 받아 감소함을 보였다.

2) hydroxyproline 함량의 변화

실험군이 2.04mg%, 대조군이 2.74mg%로서 vitamin A에 의해 骨중의 hydroxyproline 함량이 감소함을 알 수 있었다.

3) hexosamine 함량의 변화

실험군이 0.93mg%, 대조군이 1.13mg%로서 치밀골

중의 hexosamine 함량이 vitamin A의 영향으로 감소됨이 나타났다.

Table 1. Contents of total protein, hydroxyproline, and hexosamine in the cortical bone of rats.

	total protein dry %	hydroxyproline dry %	hexosamine dry %
vitamin A-administered group	6.47±0.50	2.04±0.27	0.93±0.45
control group	7.89±1.05	2.74±0.65	1.13±0.97

IV. 고 찰

소의 치밀골의 조성에 관한 실험에서 Orten 등¹³⁾은 collagen이 18.6%, 단백질과 多糖類의 결합물이 0.2% 그리고 그밖에 다른 단백질이 1.0%로서 총단백질량 19.7% 내외에서 거의 대부분이 collagen임을 밝혔다. 그의 지방질이나 점액다당류 이외의 당류는 극히 소량임을 보고하였다. 이들의 실험 결과를 저자의 그것과 비교하면, 비조군에서 위의 치밀골의 총단백질은 7.9%로서 19.7%에 비해 큰 차이가 있는데, amino糖인 hexosamine은 1.13%로서 훨씬 많음을 알 수 있다. 그런데 Miles¹³⁾은 건강 상아질의 hexosamine 함량이 0.3%, 우식 상아질에서는 2.0%라고 하였다.

White¹⁴⁾등은 collagen이 사람의 전체 단백질의 25~33%를 차지한다고 했으며, 그 amino산 조성은 glycine이 1/3, proline과 hydroxyproline이 21%인데, 그 중 후자인 hydroxyproline은 사람의 피부 collagen에서 9.4%를 차지한다고 하였다. 이는 Piez¹⁵⁾의 사람의 상아질에서 9.9%, Lidsky 등¹⁶⁾의 소의 髓에서 9.2%, Glimcher 등¹⁷⁾의 소의 백아질에서 10.6%라는 보고와 유사하다. 따라서 hydroxyproline은 collagen에서 10% 내외를 차지한다고 볼 수 있어 전체 뼈의 조성에서 hydroxyproline이 차지하는 비율은 소의 치밀골의 경우 2%정도가 된다고 보면 본 실험의 2.7%와는 약간의 차이가 있다.

Harper⁶⁾는 뼈에서 유기기질이 차지하는 비율을 脫脂된 건조량의 25~35%, 치아 상아질은 25%가 유기기질이라고 했다. 본 실험에서 전체 유기기질 함량은 구하지 않았으나 그에 대한 究明은 앞으로 계속될 것이다. 骨과 유사한 석회화조직인 睡石의 화학적 조성에 관한 실험에서 정태영 등¹⁸⁾은 10.3%가 단백질이라고 보고한 바 있다.

본 실험에서 vitamin A가 collagen 중의 hydroxyproline 함량과 hexosamine 함량을 다소 감소시켰는데 이러한 vitamin A의 작용에 관한 보고는 아직 거의 없는 실정이다. 다만 vitamin A 과다증에 대해 사람이나 몇몇 실험동물에서의 연구 결과가 일부 보고되어 있을 뿐이다. Harper⁶⁾는 영아나 어린아이들에서 vitamin A 과다증이 長骨골막의 비후를 가져오고, 임신한 쥐의 경우는 그 세끼에 선천성 결함이 온다고 하였다. 또한 쥐에 vitamin A가 결핍되거나 과잉공급되면 oxidative phosphorylation이 저해되는 동시에 효소의 기능적 변화가 야기된다고 하였다. Janoff와 McCluskey¹⁹⁾ (1962)는 guinea pig에 vitamin A를 과잉투여하면 acid phosphatase 활성이 상당히 저하한다고 보고하였다. 이러한 vitamin A 과다증에 의한 결과는 vitamin A의 결핍시와 비교하면 좋은 참고가 될 것이다. Harper⁶⁾는 vitamin A의 결여시 실험동물의 성장이 골격과 연조직의 순서로 저해되며, 특히 성장 동물의 교원성 조직이 영향받는다 고 했다. 이러한 전제는 vitamin A 결핍시 chondroitin sulfate의 함량이 잘 되지 않아 뼈형성이 지연된다는 Cantarow⁷⁾ 등의 보고와 일치한다.

Cantarow⁷⁾ 등은 vitamin A 과잉투여시 골격에 변화가 와서 뼈흡수가 증가하는 동시에 치밀골의 침착도 야기된다고 했으며, 아이들의 경우 骨端部가 早期에 폐색되고 성장이 저해되나, 어린쥐와 guinea pig의 경우는 수 주일만에 1년간의 성장도를 보이고 新生骨의 석회화가 불충분해 쉬 과결된다고 하였다. 이러한 보고는 사람에게 vitamin A를 아주 과잉투여할 때 骨의 脫灰와 더불어 뼈파절이 야기된다는 Bogert 등⁸⁾의 연구보고와 일치한다. 저자의 실험에서 중요 기질 성분이 vitamin A의 대량투여로 감소함은 骨의 脫灰라는 관점에서 보면 다소 수궁이 간다고 보겠다.

hexosamine이 기질의 한 성분이라고 볼 때 vitamin A 과잉공급시 이의 감소는 다소간 기질형성의 불충분을 가져온다고 하겠다. 또한 collagen이 전체 단백질의 매다수를 차지하는 까닭에 총단백질의 감소가 기질의 주요 성분인 collagen의 함량을 다소 감소시켰다고 볼 때 hydroxyproline의 감소는 예상할 수 있으며, 기질형성에 다소간 장애를 주었다고 할 수 있다. 본 실험에서 행한 骨유기질의 조성 변화에 관한 연구는 다른 조직의 기질 조성 변화와의 비교검토를 필요로 한다고 하겠다. 다만 여기서 석회화 과정에 collagen이 중요한 역할을 한다는 점과 관련하여 앞서의 Cantarow 등⁷⁾의 뼈파절에 관한 보고가 흥미의 초점이 될 수 있다는 점에서 vitamin A 투여기간을 달리함으로써 보다 뜻있는 결과가 얻어질 수도 있으리라 기대하는 바이다.

V. 결 론

vitamin A가 뼈서의 치밀골의 유기질 함량에 미치는 영향을 알기 위해 본실험을 행한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 총단백질 함량은 vitamin A 투여군이 6.47mg%, 대조군이 7.89mg%로서 vitamin A 투여에 의해 骨基質의 단백질 함량이 감소하였다.
2. hydroxyproline 함량은 vitamin A 투여군에서 2.04mg%, 대조군에서 2.74mg%로서 실험군이 대조군보다 낮았다.
3. hexosamine 함량은 vitamin A 투여군이 0.93mg%, 대조군이 1.13mg%로서 역시 실험군이 낮았다.

(이 논문의 작성에 물심양면으로 도움주신 조한국 지도교수님과 정태영 교수님 및 그밖의 분들께 감사드립니다.)

참 고 문 헌

1. Orten, J.M. and Neuhaus, O.W.: Biochemistry, 8, 543, 1970.
- 2) Hess, W.C. and Lee, C.: Mucopolysaccharide extracted from dentin, J. Dent. Res., 31, 793, 1952.
- 3) Brudevold, F., Steadman, L.T., and Smith, F.A.: Inorganic and organic components of tooth structure, Ann. N. Y. Acad. Sci., 85, 110, 1960.
- 4) Karlson, P.: Introduction to Modern Biochemistry, 3, 404, 1969.
- 5) Shafer, W.G., Hine, M.K., and Levy, B.M.: A Textbook of Oral Pathology, 3, 591, 1974.
- 6) Harper, H.A.: Review of physiological chemistry, 13: 8, 87, 478, 1971.
- 7) Cantarow, A. and Schepartz, B.: Biochemistry, 4, 142, 1967.
- 8) Bogert, L.J., Briggs, G.M., and Calloway, D.H.: Nutrition and Physical Fitness, 8, 288, 1966.
- 9) Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L., and Randall, R.J.: Protein measurement with the folin phenol reagent, J. Biol. Chem., 193: 265, 1951.
- 10) Woessner, J.F.: The determination of hydro-

- xyproline in tissue and protein samples containing small proportions of this imino acid, Arch. Biochem. Biophys., 93:440, 1961.
- 11) Rondle, C.J.M. and Morgan, W.T.J., Biochem. J., 61, 586, 1955.
- 12) Dische, Z.: New color reactions for determination of sugars in polysaccharides, Methods of Biochemical Analysis, 2, 313, 1955.
- 13) Miles, A.G.W.: Structural and chemical organization of teeth, Academic Press, New York, 1967, Vol. I and II.
- 14) White, A., Handler, P., and Smith, E.L.: Principles of Biochemistry, '5, 978, 1973.
- 15) Piez, K.A., Science, 134, 841, 1961.
- 16) Lidsky, M.D., Sharp, J.T., and Rudee, M.L., Arch. Biochem., 121, 496, 1967.
- 17) Glimcher, M.J., Friberg, U.A., and Levine, P.T., J.Ultrastruct. Res., 10, 76, 1964.
- 18) 鄭泰英, 朴興植, 金宗源: 唾石의 化學的 組成에 關한 觀察, 大韓齒科醫師協會誌, Vol.9, No.7, July, 1971.
- 19) Janoff, McCluskey: Review of physiological chemistry, Harper, H.A., 87, 1971.

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

AN EXPERIMENTAL STUDY OF THE EFFECT OF VITAMIN A ON
THE ORGANIC COMPOSITION OF THE RAT BONES

Yoon Hae Eo, D.D.S.

Dept. of Oral Path., College of Dentistry, Seoul National Univ.

This experiment was carried out to investigate the effect of vitamin A on some organic constituents of the cortical bones.

10mg per body weight kg of vitamin A was administered everyday to 60 healthy rats weighing about 80~100g for a period of 15 days. The samples were analyzed for total proteins, hydroxyproline and hexosamines by photometry.

The obtained results were as follows.

1. Total protein contents were 6.47mg% in vitamin A-administered group and 7.89mg% in control group, which showed the lowering effect of vitamin A.
2. Hydroxyproline contents of vitamin A-administered group was 2.04mg%, showing a lower level than 2.74mg% of control group.
3. Hexosamine contents of the experimental group was 0.93mg%, also presenting its low level comparing with 1.13mg% in control group.