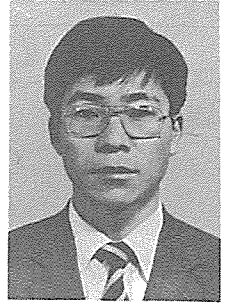


## 석회화 기전에 관한 최근 동향

서울대학교 치과대학 구강생화학교실 및 치학연구소

전임강사 민 병 무



### I. 서 론

경조직은 세포성 기원인 유기성분과 체외로부터 음식물을 통해 섭취되는 무기성분으로 구성되어 있으며, 주된 무기성분은 칼슘과 인산으로서 이의 대사에 관련된 수종 호르몬들은 석회화에 밀접히 관련되어 있다. 정상적인 상태하에서 경조직의 형성은 조골세포, 연골세포, 조상아세포와 같은 특수 세포들에 의해 생성된 유기질에 불용성의 인산칼슘이 침착됨으로써 이루어진다. 석회화 기질의 형성과 유지는 세포 활성에 의해 조절되는 동적인 과정이므로 경조직은 일반적으로 동적인 상태를 유지하고 있다.

석회화 기전에 관하여 지금까지 보고된 여러 보고들은 석회화의 초기단계가 어떻게 이루어지는지에 초점이 맞추어져 있으며 석회화의 초기단계는 현재까지도 관심의 대상이 되고 있다. 이것은 크게 동종핵형성(homogeneous nucleation)과 이종핵형성(heterogeneous nucleation)으로 대별될 수 있으며, 1950년대에 들면서 점차 동종핵형성에서 이종핵형성 쪽으로 관심이 기울게 되었다. 이종핵형성은 결정 형성의 핵으로 작용할 수 있는 어떤 물질이 존재하거나 혹은 형성되어 epitaxy에 의해 경조직이 형성될 것이라는 설이다. 그러므로 이 물질의 본체와 석회화의 초기단계를 밝히고자 하는 노력이 끊임없이 경주되어 왔다.

1967~1970년 연골형성(endochondral ossification)이 진행중인 연골에서 간질소포(matrix vesicle)의 존재가 최초로 확인되었고, 간질소포내에 인회석(apatite)의 결정들이 함유되어 있음이 보고되었다.<sup>1,2</sup> 뒤이어 가골, 성장중인 골, 상아전질 및

사슴 뼈에서 석회화가 일어나는 최초의 장소가 간질소포 임이 입증되었다. 현재에도 연골의 성장판, 상아전질, 성장중인 골 뿐만아니라 병적인 상태하에서 비정상적으로 일어나는 석회화 과정<sup>3,4</sup>에서도 간질소포가 인산칼슘이 침착되는 최초의 장소로써 널리 인정받고 있다. 간질소포의 발견은 석회화 기전의 연구에 커다란 전환점이 되었으며, 간질소포를 주축으로한 석회화 기전에 관한 연구가 활발히 진행되게 되었다.

석회화 기전에 관한 연구는 현재에도 활발히 진행중이고 또한 여러 실험모델들이 개발됨에 따라 석회화 기전의 많은 부분이 밝혀졌으나, 생물학적 생화학적으로 석회화 기전을 명료하게 설명하기 위해서는 앞으로 밝혀져야 할 많은 문제점이 지적되고 있다.<sup>5</sup> 여기에서는 골생물학의 정확한 이해를 돕기 위해 간질소포를 중심으로한 석회화 기전의 최근 동향을 살펴보고자 한다.

### II. 석회화 기전

#### 1. 간질소포의 생성

1970년대 중반부터 간질소포의 생성양식에 관하여 많은 연구가 진행되어 왔으며, 이는 4가지 가설로 요약될 수 있다(표1). 표1의 가설들은 제각기 나름대로의 실험적 근거를 제시하고는 있으나, 전자현미경상에 의한 형태학적 연구(그림 1)<sup>6</sup>와 생화학적 연구결과에 의해 원형질막에서 출아(budding)되어 간질소포가 생성된다는 설이 가장 널리 인정받고 있다. 생화학적 근거로써 간질소포막의 치질성분을 분석해본 결과 간질소포막은 원형질

표 1. 간질소포 생성에 관한 가설

가 설	내 용
출아(budding)설	원형질막에서 출아되어 간질소포가 생성된다는 설
세포용해(cell degeneration)설	세포가 용해(변질)되어 세포의기질에 분산되어 간질소포가 생성된다는 설
돌출(extrusion)설	세포질(cytoplasm)에 있는 소포들이 돌출하여 간질소포가 생성된다는 설
자가조립(self-assembly)설	분자크기의 하위단위체(subunit)가 세포의 기질내로 분비되어 그곳에서 조립되어 간질소포가 생성된다는 설

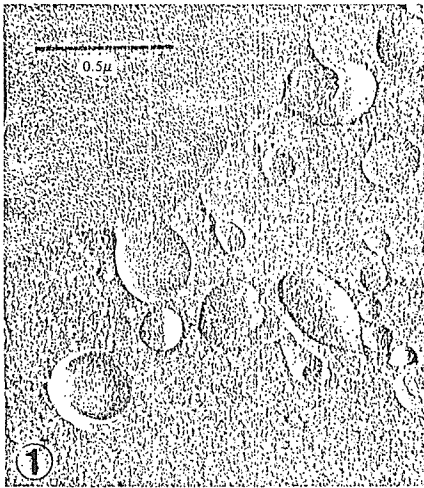


그림 1. 백서의 비대성 연골세포(hypertrophic chondrocyte)에서 간질소포가 원형질막으로부터 출아되는 모습을 보여주는 전자현미경상 도해

막에서 특징적으로 보이는 고농도의 phosphatidyl serine과 고농도의 sphingomyelin이 함유되어 있고<sup>7</sup> 콜레스테롤 / 인지질(phospholipid)의 비가 높아<sup>8</sup> 전형적인 원형질막의 특성을 보이고 있다. 또한 간질소포막에는 원형질막의 marker enzyme인 핵산염 분해효소(5'-nucleotidase)의 활성이 매우 높음이 보고되었다.<sup>9</sup> 이와같이 원형질막과 간질소포막의 생화학적 특성은 매우 유사하나, 원형질막보다 간질소포막에서 인지질의 농도가 오히려 더 높아<sup>8</sup> 간질소포는 알칼리성 인산효소(alkaline phosphatase), 다른 수중 단백질 및 인지질이 많이 함유되어 있는

원형질의 특정 부위가 출아되어 생성된 것으로 생각된다.

## 2. 간질소포 석회화 기전의 초기단계

석회화 기전은 크게 2 단계로 나누어 생각할 수 있는데 제 1 단계는 간질소포가 생성되어 간질소포 내에서 인회석 결정의 초기생성 과정(crystal initiation)이며, 제 2 단계는 결정의 증식 및 성숙과정이다.

간질소포는 석회화 초기단계에서 수산화인회석(hydroxyapatite)의 종자결정(seed crystal) 형성에 관여하고 있다.<sup>10</sup> 칼슘이온은 간질소포막의 구성성분인 산성인지질(acidic phospholipid) 특히 phosphatidyl serine에 의해 이끌려 phosphatidyl serine 이 많은 간질소포막 지방질 이중층(lipid bilayer)의 내면에 국소적으로 증가하게 된다. phosphatidyl serine, phosphatidyl inositol, phosphatidic acid 와 같은 산성인지질 특히 phosphatidyl serine은 칼슘이온에 대한 친화력이 매우 크며, 인산이온이 존재시에는 더더욱 증가된다.<sup>11</sup> 이와같이 산성인지질은 에너지를 필요로 하지 않는 칼슘 유인장치(Ca<sup>2+</sup> trap)로서 작용하여 결정형성이 최초로 일어날 간질소포막 내면의 특정부위에 칼슘이온을 국소적으로 집중시키게 된다. 간질소포막에 칼슘펌프가 존재할 가능성이 일부에서 제시되어 왔으나 아직 그의 존재는 보고된 바 없으며, 오히려 Wuthier는<sup>12</sup> 칼슘펌프가 간질소포막에 존재시 석회화에 역효과가 일어날 수

있다고 반박하였다. 결국 칼슘이온은 수동적인 확산(passive diffusion)에 의해 간질소포내로 유입되어 간질소포막 성분인 산성인지질과 선택적으로 결합함으로써 간질소포막 지방질 이중층의 내면에 칼슘농도가 증가하게 된다.<sup>9</sup>

중전에는 알칼리성 인산효소, ATPase, inorganic pyrophosphatase, 핵산염 분해효소 및 ATP pyrophosphohydrolase와 같이 간질소포막에 존재하는 인산효소들은 세포외액에 있는 인산에스테르(ester phosphate)를 가수분해시켜 무기인산을 유리시키는 작용만이 널리 알려져 왔으나<sup>10</sup>, Kanabe 등<sup>11</sup>은 간질소포막에 존재하는 ATPase는 내재성 단백질(transmembrane protein)임을 밝히고 이와같은 구조적 배열을 가짐으로써 인산효소가 인산기 전위장치로서의 기능이 있음을 강력히 시사하였다. 또한 Cyboron 등<sup>14</sup>은 생리적인 조건하에서 간질소포막 알칼리성 인산효소는 간질소포내로 무기인산의 확산을 용이하게 해주는 매개자(vector)의 기능을 갖는다고 주장하였다.

Boskey 등<sup>15</sup>은 지질과 무기질사이의 상관관계에 대한 연구에서 정상적인 또는 병적인 조건하에서 일어나는 석회화 과정에서 무기이온의 침착은 칼슘-인산-인지질 복합체의 형태로서 일어나며, 복합체를 이루는 인지질중 거의 대부분을 phosphatidyl serine이 차지하고 있다고 하였다. 간질소포막의 phosphatidyl serine주위에 칼슘과 인산이온이 집중되어 석회화의 초기단계에서 칼슘-인산-인지질 복합체를 형성하고 이것이 최초의 무기질 결정(primary crystal)의 핵으로 작용하여 결정을 형성하고, 이것을 중심으로 준안정성(metastable) 상태에 있는 간질소포액(matrix vesicle sap)의 인산칼슘농도에서 수산화인회석의 침착을 유도시키게 되어 계속적인 결정의 생성을 유발시키는 것으로 사료된다. 그림 2, 3과 같이<sup>9</sup> 최초의 무기질 결정은 phosphatidyl serine주위에 칼슘과 인산이온이 국소적으로 침착되어 유도되며, 일단 인회석 결정들이 형성되면 인지질에 대한 칼슘의 친화력 및 확산속도에 따른 칼슘이온의 이용 가능성과 인산효소의 활성화에 따른 인산이온의 이용 가능성에 따라 간질소포막 내면에 형성된 최초의 결정에 무기질들이 계속 침착되어 간질소포내부(matrix vesicle sap)을 채우게 된다.

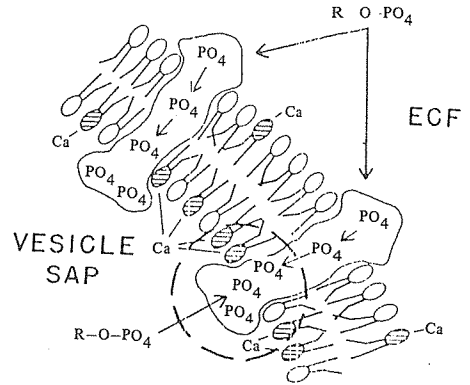


그림 2. 간질소포막에서 일어나는 석회화 초기 단계에 대한 도해. 인산효소는 간질소포막 지방질 이중층에 내재성으로 존재하며 이는 간질소포액과 간질소포 외부에 존재하는 인산에스테르를 orthophosphate로 분해시켜, 간질소포의 내막에 집중적으로 분포되어 있으며 칼슘에 대한 높은 친화력을 갖고있는 산성인지질(특히 phosphatidyl serine, 사선친 부분)의 인접부위에 전위시킴으로써 칼슘-인산-인지질 복합체를 형성하게됨(점선으로 에워싸인 부분). 이 부위에서 seed crystal이 형성되고, 이것을 중심으로 결정이 계속 성장하여 석회화가 진행됨.

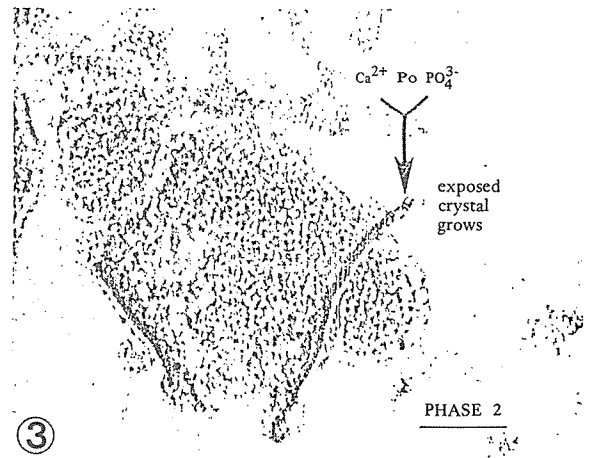


그림 3. 간질소포내에서 형성된 인회석(apatite) 결정이 간질소포 외부로 성장하고 있는 모습을 보여주는 전자현미경상 도해

산성인지질은 또한 염기성단백질과 결합하여 proteolipid를 형성하여 막과 유사한 배열을 이룸으로

써 칼슘의 축적 및 무기인산칼슘에 대한 발생처(nidus)를 제공하여 궁극적으로 칼슘-인산-인지질 복합체를 형성함으로써 석회화의 초기단계에 기여할 수 있다.<sup>16)</sup>

전자현미경상에 의한 형태학적 연구에 의하면<sup>3)</sup> 석회화의 초기단계에서 인회석 결정들이 간질소포막 외면에 침착되는 것이 종종 보이는데 이것으로 보아 간질소포막 외면에서도 내부와 동시에 또는 독립적으로 결정의 침착이 일어날 가능성을 완전히 배제시킬 수는 없을 것 같다.

### 3. 결정의 증식과 성숙

칼슘과 인산이온이 결정성 무기질 또는 비결정성 무기질 형태로서 간질소포내에 축적되면 일정시기에 간질소포막이 파괴되어 간질소포내에서 형성된 불용성의 결정들이 소포주위액(perivesicular fluid)에 노출됨으로써 석회화의 제 2 단계가 시작된다.

Wuthier 등<sup>17)</sup>은 골간단(metaphysis)에 근접할수록

간질소포에서의 lysophospholipid 농도는 증가되는데 이것은 간질소포막 인지질이 분해되어 일어나며, 간질소포막 파괴를 위해 자가파괴기전(self-destruct mechanism)이 예정되어 있는 것 같다고 보고하였다. 또한 간질소포에서 발견되는 펩티드분해효소(peptidase)와 단백질분해효소(protease)도 간질소포막 분해에 관여하는 것으로 보이며<sup>18)</sup>, 성장중인 결정체에 의한 기계적인 파괴도 일어나게 된다.<sup>19)</sup> 이와같이 간질소포막의 파괴기전은 다양하고 효율적으로 일어나게 된다. 또한 간질소포가 손상을 받으면 점착막에 틈이 생겨 간질소포내의 마그네슘 이온의 감소가 일어나게 되고 이것은 수산화인회석의 전구물질인 무정형 인산칼슘(amorphous calcium phosphate)을 수산화인회석으로의 전환을 촉진시킴으로써 석회화를 촉진시킬 수 있다.<sup>12)</sup>

정상적으로 석회화가 일어나는 조직에서 칼슘과 인산이온의 세포의 농도는 자발적인 무기질의 침착을 유발시키기에는 불충분한 양이나 이미 형성된 seed crystal이 존재할 경우 결정체의 지속적인 성

표 2. 결정의 성장을 억제하는 인자

인 자	작 용
부적절한 칼슘 · 인산농도	골의 연화 및 약화를 일으키며 경우에 따라서는 석회화에 장애를 일으킴
특정 유기인산화합물 (pyrophosphate, ATP)	수산화인회석(hydroxyapatite) 결정의 성장을 방해
Non-collagenous phosphoproteins 및 gamma-carboxy glutamic acid-containing proteins	체액과 같이 준안정성의 인산칼슘농도(metastable calcium phosphate sol.)에서 수산화인회석의 침착을 방해

표 3. 석회화를 촉진시키는 인자

인 자	작 용
칼슘 · 인산농도의 증가	석회화를 촉진시킴
교원섬유(collagen)	수산화인회석이 침착할 장소를 제공하며, 준안정성의 인산칼슘농도에서 인회석의 침착을 유도시킬 수 있음
Osteonectin	교원섬유와 수산화인회석 결정의 침착 사이를 연결시키는 기능을 가짐

#### 표 4. 석회화 기전에서 앞으로 좀더 밝혀져야할 과제

1. 간질세포의 내부를 채울 무정형 인산칼슘을 형성하기 위하여 최초로 결정이 형성되는 부위들간에 어떻게 상호작용하는가?
2. 무정형 인산칼슘이 수산화인회석으로의 전환을 야기시키는 계기나 동기는 무엇일까? 혹은 자발적으로 일어날까?
3. 무정형 인산칼슘의 수산화인회석으로의 전환은 간질세포내에서 마그네슘이온의 급격한 감소와 칼슘 및 무기인산의 역치(threshold level)에 의존하는가?
4. 간질세포막에 존재하는 내재성단백질(인산효소)과 산성인지질의 분포에 어떤 규칙적인 분포 양상이나 구조가 있는가?

장을 유발시키기에는 충분하다. 그러므로, 계속적인 무기질의 침착이 일어나 결정의 성장은 계속되고, 무정형 인산칼슘이 수산화인회석으로 전환되어 결정은 계속 성숙하게 된다. 석회화 조직의 성숙과정은 각 조직마다 약간의 차이를 보이고 있다.

#### 4. 석회화 속도를 조절하는 인자

세포외 기질에 존재하며 결정의 증식과 성숙과정에 영향을 미치는 인자들을 살펴보면 다음과 같다(표 2, 3). 표 2, 3에 열거된 여러 인자들에 의해 석회화의 속도가 조절받게 되며 경우에 따라서는 석회화 장애를 유발시키기도 한다.

#### 5. 석회화 기전에서 앞으로 좀더 밝혀져야할 과제

석회화 기전에 관한 연구는 골생물학의 정확한 이해와 병적인 조건하에서 비정상적으로 결정의 침착이 일어나는 calcific disease를 이해하는데 꼭 필요하며, 이를 위해 생물학적 생화학적 석회화 기전이 명백히 밝혀져야할 것으로 사료된다. 기기의 발달과 여러 실험모델의 개발에 힘입어 석회화 기전에 관한 많은 부분이 밝혀졌으나 아직까지 정확히 밝혀지지 않은 많은 문제점들이 있다(표 4).<sup>9)</sup> 치의학의 여러 분야들이 골생물학과 밀접히 관련되어 있으므로 앞으로 이 분야에 관한 많은 연구가 필요할 것으로 생각된다.

#### 참 고 문 헌

1. Anderson, H.C.: Electron microscopic studies of induced cartilage development and calcification. *Journal of Cell Biology*, 35: 81-101, 1967.
2. Bonucci, E.: Fine structure and histochemistry of calcifying globules in epiphyseal cartilage. *Zeitschrift fuer Zellforschung und Mikroanatomie*, 103: 192-217, 1970.
3. Anderson, H.C.: Calcification processes. In: *Pathology Annual*, Volume 15, pp. 45-75. Editors: S.C. Sommers and P.P. Rosen. Appleton-Century-Crofts, 1980.
4. Anderson, H.C.: Calcific diseases: a concept. *Archives of Pathology and Laboratory Medicine*, 107: 341-348, 1983.
5. Anderson, C.: Matrix vesicle calcification. In: *Bone and Mineral Research*, Volume 3, pp. 109-149, Editors: W.A. Peck. Elsevier, 1985.
6. Cecil, R.N.A. and Anderson, H.C.: Freeze-fracture studies of matrix vesicle calcification in epiphyseal growth plate. *Metabolic Bone Disease and Related Research*, 1: 89-97, 1978.

7. Peress, N.S., Anderson, H.C., and Sajdera, S.W.: The lipids of matrix vesicles from bovine fetal epiphyseal cartilage. *Calcified Tissue Research*, 14: 275-281, 1974.
8. Glaser, J.H. and Conrad, E.H.: Formation of matrix vesicles by cultured chick embryo chondrocytes. *Journal of Biological Chemistry*, 256: 12607-12611, 1981.
9. Ali, S.Y., Sajdera, S.W., and Anderson, H.C.: Isolation and characterization of calcifying matrix vesicles from epiphyseal cartilage. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 67: 1513-1520, 1970.
10. Anderson, H.C.: Calcium-accumulating vesicles in the intercellular matrix of bone. In: *Hard Tissue Growth, Repair and Remineralization*. Ciba Foundation Symposium II (new series), pp. 213-246, ASP Elsevier-Excerpta Medica-North Holland, Amsterdam, 1973.
11. Cotmore, J.M., Nichols, G., Jr., and Wuthier, R.E.: Phospholipidcalcium phosphate complex: enhanced calcium migration in the presence of phosphate, *Science*, 172: 1339-1341, 1971.
12. Wuthier, R.E.: Electrolytes of isolated epiphyseal chondrocytes, matrix vesicles and extracellular fluid. *Calcified Tissue Research*, 23: 125-133, 1977.
13. Kanabe, S., Hsu, H.H.T., Cecil, R.N.A., and Anderson, H.C.: Electron microscopic localization of adenosine triphosphate (ATP)-hydrolysing activity in isolated matrix vesicles and reconstituted vesicles from calf cartilage. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry*, 31: 462-470, 1983.
14. Cyboron, G.W., Vejins, M.S., and Wuthier, R.E.: Activity of epiphyseal cartilage membrane alkaline phosphatase and the effects of its inhibitors at physiological pH. *Journal of Biological Chemistry*, 257: 4141-4146, 1982.
15. Boskey, A.L., Bullough, P.G., and Posner, A.S.: Calcium acidic phospholipid-phosphate complexes in diseased and normal human bone. *Metabolic Bone Disease and Related Research*, 4: 151-156, 1982.
16. Vogel, J.J., Boyan-Salyers, B., and Campbell, M.M.: Protein-phospholipid interactions in biological calcification. *Metabolic Bone Disease and Related Research*, 1: 149-153, 1978.
17. Wuthier, R.E.: The role of phospholipids in biological calcification: distribution of phospholipase activity in calcifying epiphyseal cartilage. *Clinical Orthopaedics and Related Research*, 90: 191-200, 1973.
18. Hirschman, A., Deutsch, D., Hirschman, M., Bab, I.A., and Muhrad, A.: Neutral peptidase activities in matrix vesicles from bovine fetal alveolar bone and dog osteosarcoma. *Calcified Tissue International*, 35: 791-797, 1983.

영업관리 및 사후관리 연락처

치과의료장비 종합메이커



주식회사 新興  
TELEPHONE: 778-0941~6  
FAX NO. (02) 755-8686

서울특별시 중구 남대문로5가 158번지

영업관리 및 사후관리 연락처

관할부서	연락처	관할지역
전국총괄관리과	02-778-0947 전	국
본사사후관리부	02-756-4903 경	기·강원
대전사무소	042-22-2805 총	북·충남
광주사무소	062-22-4398 전	남
부산사무소	051-22-9010 동부	경남, 제주
대구사무소	053-422-4264 경	북
마산사무소	0551-2-4642 서부	경남
전주사무소	0652-5-5316 전	북