

Tetracycline이 白鼠骨에 미치는 影響

서울대학교 齒科大學 生化學教室

鄭泰英 · 崔根培 · 魚允海 · 李美代

THE EFFECT OF TETRACYCLINE ON THE ZINC CONTENTS OF BONE MINERAL OF YOUNG RATS.

Tai Young Chung, Keun Bae Choi, Yoon Hae Eo, and Mee Dae Lee

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

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

This study was carried out to investigate the effect of tetracycline on the zinc contents of bone mineral of young rats.

Mandible and tibia were obtained from the young rats which had been delivered from the adult rats receiving a daily dose of 40 mg or 80 mg/kg of tetracycline HCl during the middle stage (the 8th—15th day) or the last stage (15th—22nd day) of gestation.

The bone samples were ashed and the zinc contents of bone ash were determined by atomic absorption spectrophotometer.

The results were as follows:

1. The zinc contents of mandible were highest in the 1st week after delivery (322 μ g/g ash), and then slightly lowered in order of the 3rd and 5th weeks.
2. The zinc contents of tibia were 345 μ g/g ash in the 1st week, 336 μ g/g ash in the 3rd week, and 322 μ g/g ash in the 5th week after delivery.
3. In tetracycline administration during the middle stage of gestation, the zinc contents of mandible and tibia in the 1st and 3rd weeks after delivery were higher than the control, and in the 5th week close to the control.
4. In tetracycline administration during the last stage of gestation, the zinc contents of mandible and tibia in the 5th week after delivery as well as in the 3rd week were higher than the control.
5. The zinc contents were somewhat increased in the higher doses of tetracycline.

I. 緒 論

骨組織과 齒牙의 無機成分의 大部分을 차지하고 있는 Ca, Mg과 P의 代謝過程에 關하여 많은 學者에 依해 研究된바 있으나 硬組織에 比較的 微量含有되어 있는 Zn에 關하여는 報告가 적어 아직도 研究의 對象이 되고있다.

Alexander와 Nusbaum (1962)은 肋骨에서 Mawson과 Fischer (1951), Huxley와 Leaver (1966), Folli et al. (1941), 와 Gilbert와 Taylor (1956) 등은 白鼠의 硬組織에서, 그리고 Söremark와 Samsahl (1961), Brudevold et al (1963)와 Battistone (1967) 등은 齒牙에서 Zn의 含量, 分布에 關해 報告하였다.

骨의 石灰化過程에서 Zn ion이 어떻게 作用하는가의 確實한 機轉은 아직도 잘 알려진바 없으나 石灰化 過程初期에 骨化組織의 Zn濃度가 점차 增加하는 것으로 봐서 Zn가 石灰化된 組織의 有機質보다는 骨의 無機質과 더욱 密接한 關係가 있는 것으로 推定된다.

Hurley et al (1969)은 Zn는 Ca의 正常代謝에 必要하고 Haumont와 McLean (1966)은 Zn는 石灰化過程을 觸媒하는데 必須要素라 하였다. 그러나 Zn가 어떻게 酵素系에 作用하고 또 어떻게 crystal seeding이나 nucleation에 金屬 ion으로 關與하는 가는 아직도 究明되지 못하고 있다. 또한 Brudevold (1963)은 Zn는 合成 hydroxyapatite의 crystal 表面에 Ca이 들어갈 位置와 競爭적으로 apatite에 結合하게 된다 하였다. 또 Samachson et al (1967)은 in vitro로 骨組織粉末에서 無機質이 骨質보다 더욱 빨리 Zn를 結合한다 하였다. 抗生物質中 特히 tetracycline은 Ca^{++} , Ba^{++} , Mg^{++} , Fe^{++} , Cu^{++} 와 Zn^{++} 등 金屬 ion과 chelation할 수 있는 部位를 가장 많이 含有하고 있어 Albert (1953), Regna et al (1951), Weinberg (1957)와 Smith와 Chapman (1963) 등은 tetracycline이 蓄積되어 骨組織代謝를 妨害하여 ion交換을 遲延시켰음을 報告하였다. Urist et al (1963)은 石灰化過程의 抑制 效果에 對한 機轉은 明確치않으나 calcium phosphate 結晶의 表面에서 Ca과 어떤 複合體를 形成한다 하였으며 Wallman (1962)은 骨組織과 齒牙에서 分離된 tetracycline은 tetracycline-Ca-orthophosphate-complex로 結合한다고 推定하여 어떤 다른 二價 ion도 類似한 complex를 形成하는 것으로 推理할 수 있다.

이에 著者는 妊娠한 白鼠에 tetracycline을 投與하여 分離한 乳白鼠의 脛骨과 下顎의 骨成長中에 Zn ion 含量을 atomic absorption spectrophotometer로 測

定하여 比較檢討한바 興味있는 結果를 얻었기에 報告하는 바이다.

II. 實驗材料 및 方法

1) 實驗動物

一定한 條件下에 飼育한 體重이 約 180~200g 内外의 生後 約 9~10週된 健康한 白鼠 30匹을 妊娠시키어 分娩한 乳白鼠를 使用하였다. 白鼠의 妊娠確認은 雌白鼠를 交尾시킨후 體重增加와 臍內容物의 顯微鏡檢査로 確認하였다.

2) 實驗方法

(1) 實驗群: 正常分娩한 乳白鼠를 다음과 같이 3群으로 나누어 實驗하였다.

對照群; Tetracycline을 投與하지 않은 正常白鼠에서 分娩한 乳白鼠 50匹에서 脛骨과 下顎骨을 分離摘出하여 使用하였다.

Tetracycline 投與群; 1) 妊娠後 8日부터 7日間 妊娠中期에 40mg 혹은 60mg/kg의 tetracycline HCl을 每日 靜脈注射한 白鼠에서 分娩한 乳白鼠를 使用하였다.

2) 妊娠後 15日부터 7日間 妊娠後기에 40mg/kg 혹은 80mg/kg의 tetracycline HCl을 注射한 白鼠에서 分娩한 乳白鼠 50匹을 使用하였다.

(2) 試料의 準備: 各群의 動物을 分娩後 1週부터 5週까지 週期마다 10匹씩 犧牲시켜 脛骨과 下顎骨을 그 주위 軟組織을 分離하여 摘出하였다. 摘出된 脛骨과 下顎骨을 105°C에서 24時間 乾燥한다음 500°C의 furnace에서 10分間 灰化시켜 그 중 一定量(10mg)을 採取한 후 3N HCl 0.5ml에 溶解시킨 다음 0.36N HCl 4.5ml를 添加하여 全體容量이 5ml가 되도록 稀釋하였다.

(3) Zn의 測定: 必要에 따라 上記稀釋溶液을 Zn의 測定範圍가 되도록 蒸流水로 調整하여 atomic absorption spectrophotometer (Perkin Elmer Co. Model 303)을 利用하여 定量하였다.

III. 實驗成績

1) Tetracycline이 下顎骨 Zn 濃度에 미치는 影響
妊娠한 白鼠에 tetracycline을 每日 40mg 혹은 80mg을 7日間 投與한 後 分娩한 乳白鼠의 下顎骨 Zn 含量變化를 對照群과 比較한 結果는 Table I에서 보는 바와 같다.

즉 對照群에서는 分娩 1週에 灰分 g當 322 μ g으로

Table 1. The effect of tetracycline on the zinc content of mandible mineral.

	weeks after delivery		
	1	3	5
Control	322±65*	305±42	304±72
Tetracycline I** 40mg	369±38	341±61	326±83
80mg	388±72	367±55	306±25
Tetracycline II*** 40mg	—	355±52	341±44
80mg	—	324±32	366±47

* $\mu\text{g/g}$ ash Mean±SD

** Rats were received a daily dose of 40 or 80mg/kg of tetracycline during the middle stage of gestation.

*** Rats were received a daily dose of 40 or 80mg/kg of tetracycline during the last stage of gestation.

Table 2. The effect of tetracycline on the zinc content of tibia mineral.

	weeks after delivery		
	1	3	5
Control	345±50*	336±72	322±43
Tetracycline I** 40mg	355±32	355±92	325±125
80mg	405±46	349±54	324±23
Tetracycline II*** 40mg	—	381±45	342±58
80mg	—	345±92	343±62

* $\mu\text{g/g}$ ash Mean±SD

** Rats were received a daily dose of 40 or 80mg/kg of tetracycline during the middle stage of gestation.

*** Rats were received a daily dose of 40 or 80mg/kg of tetracycline during the last stage of gestation.

第一높았고 3週와 5週에 約 305 μg 程度로 약간 減少하였다.

妊娠中期에 tetracycline 投與時는 分娩 1週와 3週에서 對照群에 비해 높았고 分娩 5週에서는 對照群과 별차 없었다. 또한 tetracycline 濃도에 따른 變化는 高濃度일 境遇 다소 Zn濃도도 增加되는 傾向이 있다.

妊娠末期에 tetracycline 投與時는 分娩 3週는 물론 5週에서도 對照群에 비해 增加되었다. 또한 tetracycline濃도에 따른 變化는 認定치 못하였다.

2) Tetracycline이 脛骨 Zn 濃도에 미치는 影響

妊娠한 白鼠에 tetracycline을 每日 40mg 혹은 80mg을 7日間 投與後 分娩한 乳白鼠의 脛骨 Zn含量變化를 對照群과 比較한 結果는 Table 2에서 보는 바와 같다.

즉 對照群에서는 分娩 1週에 灰分 g當 345 μg 이고 3週에 336 μg , 5週에 322 μg 으로 점차 減少되었다.

妊娠中期에 tetracycline 投與時는 分娩 1週와 2週에 各 355Mg으로 對照群에 비해 增加되었고 5週에는 對照群과 類似하였다. 또한 tetracycline 投與量에 따른 變化는 高濃度일 境遇 다소 增加하였다.

妊娠末期에 tetracycline 投與時는 分娩 3週와 5週에서 增加하였다. 또한 tetracycline 投與量에 따른 變化는 高濃度인 境遇 다소 增加하였다.

IV. 考 察

硬組織의 石灰化過程에서 Zn의 正確한 作用機轉은 아직도 잘 理解되지 않고 있다. 또한 tetracycline이 骨組織의 主要金屬 ion을 chelation하는 親和力을 갖고 있다는 것은 잘 알려진 事實로서 이에 바탕을 두어서 tetracycline 投與한 妊娠白鼠에서 分娩한 乳白鼠의 Zn含量에 어떻게 影響을 미치는 가를 觀察키 爲해 本實驗을 實行하였다.

年齡에 따른 Zn含量變化는 Taylor (1961)의 報告에 依하면 白鼠骨에서 56日에 77ppm에서 679日에 200ppm으로 年齡이 增加함에 따라 增加한다 하였고 Alexander와 Nusbaum (1962)은 白鼠大腿骨에서 414日間 觀察에서 平均 380ppm/ash로서 年齡에 따른 變化가 없다고 하였고 이는 骨內 Zn濃도는 飲食物의 Ca과 Zn比와 密接한 關係가 있다고 하였다.

또한 Alexander와 Nusbaum (1962)에 依하면 白鼠 長骨에 있어서 骨端이 430ppm으로 骨幹의 330ppm보다 많은 量의 Zn濃도를 가지고 있다 하였다. Gilbert와 Taylor (1956)에 依하면 ^{65}Zn 를 白鼠에 注射時 45~235日後에 11~15%의 ^{65}Zn 가 骨格에 蓄積되었다 하였고 Bergman과 Söremark (1968) 등은 全身自己放射法을 利用한 實驗에서 ^{65}Zn 의 分布는 硬組織에서 長骨이 第一濃도가 높고 頭蓋骨 齒牙 肋骨 및 脊椎骨의 順으로 나타났다고 報告하였다.

本實驗에서 脛骨이 下顎骨보다 Zn濃도가 높아서 Bergman과 Söremark (1968)의 報告와 一致하나 年齡에 따른 變化는 初期에 濃도가 높고 3週와 5週에는 약간의 減少를 나타내고 있으나 他報告에 있어서는 長期間 觀察하였으므로 本實驗과는 比較키 곤란하였다.

骨組織의 Zn는 주로 食物에서 얻어지는데 만약에 Zn가 결핍된 飼料를 白鼠에 주면 骨의 Zn의 減少가 일어난다. Tucker와 Salmon(1955)은 Ca과 Zn의 拮抗作用을 最初로 報告하였다. 즉 食物의 Ca이 많으면 骨이나 齒牙에 Zn含有量이 減少된다 하였다. 그 理由는 明確히 알려진바 없으나 Forbes (1960)는 細胞level에서 Ca이 Zn의 機能에 어떤 장애를 주는 것이 아닌가 推測하였다. Heth와 Hoekstra (1965)는 이러한 Ca과 Zn의 密接한 關係는 여러가지 機轉에 依한 것이라고 推定하였는데 즉 Ca이 腸內에서 Zn의 結合력에 影響을 미칠 수 있고, Ca과 Zn사이에 어떤 形態의 競爭이 存在할 수 있고, Ca이 腸內壁通過率을 減少시킬 수 있다고 하였다. 또한 外部로 부터 들어온 Zn는 骨組織에 直接 沈積되지 않고 일단 軟組織에 蓄積된 후 계속적으로 硬組織에 移動된다. 즉 Rubini et al. (1961) 등은 白鼠에 放射性同位 Zn를 注射하면 1週後 體內에 남아 있는 放射性同位 Zn의 19.1%가 肝臟, 腎臟과 脾臟에 있고 4.0%가 骨에 나타나고 2, 3週後 肝臟, 腎臟과 脾臟에 16.1%, 8.8%로 減少하는 反面에 骨에 12.6%, 19.8%로 增加하였다고 報告하였다. 그러므로 本實驗에서 一定한 Zn含量을 飼料에 첨가시켜 觀察치 못한 것이 유감으로 思料된다.

Tetracycline이 金屬 ion과 Chelate를 形成한다는 것은 周知의 事實이며 Kelly (1960)는 妊娠中 白鼠에 tetracycline을 投與하면 그의 分娩乳白鼠는 長骨의 길이 가 짧아지고 合指症이 생기며 口蓋破裂 및 下顎骨發育不全이 온다고 하였다. 또한 Andre (1952), Kelly (1960), Cohlan(1963)과 Chu(1963) 및 그의 많은 學者等은 tetracycline에 依해 骨停滯, 骨成長 및 發育不全을 이끈다 하였다.

그리고 Smith와 Chapman (1963)은 骨組織에 tetracycline이 蓄積되어 Ca代謝를 妨害하여 ion交換을 遲延시켰음을 報告하였다.

本實驗에서 下顎骨에 있어서는 妊娠 8~15日사이에 tetracycline 投與時 分娩 1週와 3週에서 對照群에 비해 Zn濃도가 높았는데 이는 金(1974)이 成長發育을 計測한 것과 對照하여 類似한 結果를 얻었다.

즉 投與後 3週까지는 成長發育의 抑制效果가 있다고 報告하였는데 5週에는 Zn濃도도 對照群과 類似하게 되었다.

그러나 妊娠 15~19日사이에 投與한 境遇 5週까지도 對照群에 비해 높았는데 이는 投與後 約 20일까지 抑制作用이 미치는 것으로 推定할 수 있었다. 또한 本實驗에서 脛骨도 下顎骨과 類似한 結果를 얻었다.

그래서 앞으로 tetracycline으로 骨成長이 抑制된

石灰化過程에 Zn가 어떻게 作用하는 가는 좀더 究明하여야 할 課題라고 思料된다.

V. 結 論

妊娠한 白鼠에 Tetracycline을 投與하여 分娩한 乳白鼠의 顎骨 및 下顎骨의 骨成長中 Zn含量을 測定하여 다음과 같은 結論을 얻었다.

1. 下顎骨 Zn含量은 對照群에서 分娩 1週에 灰分 g當 322 μ g으로 第一높았고 3週와 5週에 약간 減少하였다.
2. 顎骨 Zn含量은 對照群에서 分娩 1週에 灰分 g當 345 μ g이고 3週에 336 μ g, 5週에 322 μ g이었다.
3. 妊娠中期에 tetracycline 投與時 下顎骨 및 顎骨 Zn含量은 分娩 1週와 3週에 對照群에 비해 높았고 5週는 差가 없었다.
4. 妊娠末期에 tetracycline 投與時 下顎骨 및 顎骨 Zn含量은 分娩 3週는 물론 5週에서도 對照群에 비해 높았다.
5. Tetracycline 投與量에 따른 變化는 高濃度일 境遇 다소 增加하였다.

References

- 1) Albert, A.: Activity of terramycin and aureomycin for metallic cations. Nature, 172: 201, 1953.
- 2) Alexander, G.V. and Nusbaum, R.E.: Zinc in bone, Nature, 195: 903, 1962.
- 3) Andre, T.: Studies on the distribution of tritium-labelled dihydro-streptomycin and tetracycline in the body. Acta Radiol. Suppl. 142: 1, 1956.
- 4) Battistone, G.C., Felman, M.H., and Raba, R.C.: Arch. Oral Biol., 12: 1115, 1967.
- 5) Bergman, B. and Söremark, R.: Autoradiographic studies on the distribution of zinc-65 in mice. J. Nutr. 94: 6, 1968.
- 6) Brudevold, F., Steadman, L.T., Spinelli, M.A., Amudur, B.H., and Grön, P.: A study of zinc in human teeth. Arch. Oral Biol. 8: 135, 1963.
- 7) Cohlan, S.Q., Bevelander, G. and Tiamsic, T.: Growth inhibition of prematures receiving tetracycline. Amer. J. Dis. Child. 105:

- 453, 1963.
- 8) Chu, E., O'hara, A.E. and Keitel, H.G.: Relationship of growth of the fibula in premature infants to the administration of oxytetracycline. *Amer. J. Dis. Child.* 105: 753, 1963.
 - 9) Follis, R.H., Jr., Day, H.G. and McCollum, E.V.: Histological studies of the tissues of rats fed a diet extremely low in zinc. *J. Nutr.* 22: 223, 1941.
 - 10) Forbes, R.M.: Nutritional interactions of zinc and calcium. *Fed. Proc.* 19: 643, 1960.
 - 11) Haumont, S. and McLean, F.C.: in *Zinc metabolism* (A.S. Prasad, ed.), Thomas Springfield, Ill., 1966, p.169.
 - 12) Heth, D.A., and Hoekstra, W.G.: Zinc-65 absorption and turnover in rats. *J. Nutr.* 85: 367, 1965.
 - 13) Hurley, L.S., Gowan, J., and Milhaud, G.: *Proc. Soc. Exp. Biol., Med.* 130: 856, 1969.
 - 14) Huxley, H.G. and Leaver, A.G.: The effect of different levels of dietary zinc and calcium upon the zinc concentration of the rat femur and incisor. *Arch. Oral Biol.* 11: 1337, 1966.
 - 15) Gilbert, G.F. and Taylor, A.B.: The behavior of zinc and radiozinc in the rat. *Biochim et Biophys. Acta* 21: 546, 1956.
 - 16) Kelly, R.G. and Buyske, D.A.: Concentration and persistence of tetracycline and chlortetracycline in bone. *J. Pharmacol. Exp. Therap.* 130: 150, 1960.
 - 17) Kim, J.C.: Experimental studies of the effect of tetracycline on mineralization and growth in rats. *New Med. J.* 17: 917, 1974.
 - 18) Mawson, C.A. and Fischer, M.I.: *Nature.* 167: 859, 1951.
 - 19) Regna, P.P., Solomons, I.A., Murai, K., Timreck, A.E., Brunings, K.J., and Lazier, W.A.: The isolation and general properties of terramycin and terramycin salts. *J. Amer. Chem. Soc.* 73: 4211, 1951.
 - 20) Rubini, M.E., Montalvo, G., Lockhart, C.P. and Johnson, C.R.: Metabolism of zinc-65. *Amer. J. Physiol.* 200: 1345, 1961.
 - 21) Perkin Elmer Analytical Method for atomic absorption spectrophotometry 1971.
 - 22) Smith, H., and Chapman, I.V.: Use of the living chick embryo as a biological indicator of the effectiveness of chelating agents. *Nature*, 198: 32, 1963.
 - 23) Samachson, J., Dennis, J., Fowler, R., and Schmitz, A.: The reaction of Zn-65 with the surfaces of bone mineral. *Biochim. et Biophys. Acta*, 148: 767, 1967.
 - 24) Söremark, R. and Samsahl, K.: Gamma-Ray spectrometric analysis of elements in normal human enamel. *Arch. Oral Biol., Spec. Suppl.* 6: 275, 1961.
 - 25) Taylor, D.M.: Retention of zinc-65 in the bones of rats. *Nature.* 189: 932, 1961.
 - 26) Tucker, H.F., and Salmon, W.D.: Parakeratosis or zinc deficiency disease in the pig. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 88: 613, 1955.
 - 27) Urist, M.R. and Ibsen, K.H.: Chemical reactivity of mineralized tissue with oxytetracycline. *Arch. Pathol.* 76: 484, 1963.
 - 28) Wallman, I.S. and Hilton, H.B.: Teeth pigmented by tetracycline. *Lancet.* 1: 827, 1962.
 - 29) Weinberg, E.D.: The mutual effects on antimicrobial compounds and metallic cations. *Bacteriol. Ref.* 21: 46, 1957.