

Vitamin A 過量投與時 軟骨組織의 酸性뮤코多糖에 關한 研究*

서울대학교 大學院 齒醫學科 補綴學 專攻
(指導 張 完 植 教授)

金 吉 年

—目 次—

第一章	緒 論
第二章	實驗材料 및 方法
第三章	實驗成績
第四章	總括 및 考按
第五章	結 論
	參考文獻
	英文抄錄

第一章 緒 論

Vitamin A는 正常生體에서 어떻게 어느 臟器에서 作用하느냐 하는 問題를 解決하기 爲해 많은 研究가 進行되어 왔고 또 大端히 複雜한 問題를 提起하고 있다.

Vitamin A의 過量投與에 따른 生物學的 機能에 關해서는 많은 研究業績이 있으며 初期에 알려진 것 中の 하나가 骨의 remodeling이다. Vitamin A 缺乏으로 骨吸收樣狀이 變形되며 非正常的으로 骨이 肥大되고 過量投與로 全身衰弱과 四肢의 麻痺, 腸出血 및 脫毛症狀이 나타난다고 Takahashi²⁵⁾ (1925)가 最初로 報告하였다.

骨 및 軟骨에 있어서는 Collazo와 Rodriguez²⁾ (1933)가 vitamin A의 過量投與로 長骨에 骨折을 招來한다는 報告以來 Moore와 Wang¹⁶⁾ (1945), Wolbach²⁹⁾ (1947) Rodahl²⁰⁾ (1950)등의 繼續적인 研究에서 밝힌바와 같이 이러한 骨折은 Ca와 P와 같은 無機質의 變化에 依한 것이 아니라, 骨吸收의 結果로 어떤 한 部位가 얇아져서 일어난다고 하였다. 이러한 骨의 吸收가 어떻게 일어나느냐 하는 問題에 對해 Fell^{7), 8)} (1952) 등은 軟骨組織에서 vitamin A가 酸性뮤코多糖을 選擇적으로 抑制한다고

하였고, Mukherji, Bachhawat^{17), 18)} (1966)는 骨端 軟骨에서 3'-phosphoadenosine-5'-phosphosulfate (PAPS) 形成을 減少시켜 이에 따라 軟骨內의 sulfate 群의 攝取가 抑制된다고 하였다.

또한 Brighton, Schaffzin²³⁾ (1970), Lucy (1961)¹⁴⁾ Fell¹⁰⁾ ((1963) 등은 軟骨에서 이미 形成된 酸性뮤코多糖 등 實質을 分解하여 吸收를 促進시키는 lysosomal protease를 檢出하였다.

또한 Roel²¹⁾ (1969) 등은 vitamin A의 過量投與로 인한 組織破壞는 lysosome膜의 不安定으로 lysosome에서 acid hydrolase 특히 cathepsin과 같은 酵素가 遊離됨으로서 이루어지며 酵素가 循環系로도 遊離되어 赤血球膜도 破壞한다고 하였다.

Thomas²⁷⁾ (1960) 등은 家兎에서 觀察한바 vitamin A를 過量投與하면 蛋白分解酵素에 依해 蛋白實質이 破壞되어 chondroitin sulfate가 血液內로 遊離되며 sulfur의 排泄이 增加된다고 하였다. 또한 Lucy¹⁴⁾ (1961)는 細胞內 protein polysaccharide complex의 蛋白軸을 分解하여 polymeric chondroitin sulfate를 遊離한다고 하였다.

著者は 本實驗에서 白鼠에 vitamin A를 過量 投與하여 劍狀突起軟骨을 摘出 酸性뮤코多糖의 分割의 變動을 究明키 爲해 對照群과 比較檢討하였다.

第二章 實驗材料 및 方法

1. 實驗動物

100gm 內外의 白鼠를 固形飼料과 水道물을 制限없이 주어 一定한 條件下에서 飼育하였다.

2. Vitamin A 投與

Vitamin A 投與群은 植物性 기름 0.5ml 當 10,000單

* 本 論文의 要旨은 1975年 10月 25日 第18回 大韓齒科補綴學會에서 發表하였음.

位的 vitamin A가 함유된 용액을 每日 0.5ml씩 45日間 經口投與하였다.

3. 組織의 準備

實驗動物은 neck dissection을 하여 血液을 採取 血清을 分離하였고 軟骨試料로는 胸骨의 劍狀突起를 採取하여 濕重量을 測定한 後 細切하여 acetone, [chloroform 및 methanol로 順次的으로 處理하고 124時間 放置後 ether로 乾燥하여 dry weight를 測定하였다.

4. 酸性뮤코多糖 抽出 및 分割

乾燥試料에 10倍量의 蒸溜水를 加해 suspension시켜 100°C에서 30分間 加熱 變性後 NaOH로 pH가 8.0이 되게 調整하고 pronase를 加해 24時間동안 50°C에서 蛋白分解한다. pH를 다시 調整하고 pronase를 加해 24時間 蛋白分解後 NaOH의 終濃도가 0.5M되게 한다.

其後 0°C에서 18時間 放置後 trichloroacetic acid를 加해 終濃도가 0.35M되게 하여 24時間 放置 한 後 遠沈하였다. 이때 沈澱物을 95% alcohol로 씻고 이 沈澱物을 다시 蒸溜水에 溶解시켜 透析後 冷凍乾燥하여 粗酸性 뮤코多糖을 얻었다.

이 粗酸性뮤코多糖을 다시 cetylpyridinium chloride 複合體에서 解離溶出시키는 Schiller et al.²²⁾ (1961)法에 準해 分割分離하였다.

5. Cellulose acetate 膜電氣泳動

支持體로 cellulose acetate 膜 Selecta (Carl Schleicher und Schüll, Germany)를 使用하고 뮤코多糖의 固定에는 Seno²³⁾ (1970)의 二次元電氣泳動法에 準해 電氣泳動을 行하였다.

一次元 電氣泳動은 于先 0.1M pyridine+0.47M formic acid(pH 3)로 1mA/cm 電源을 連結 30分間 泳動하고 이어서 0.1M barium acetate(pH 8.0)로 1mA/cm의 電流를 通해 3時間 泳動하였다.

또한 二次元 電氣泳動은 0.2M calcium acetate를 使用하여 1mA/cm의 電流로 3時間 泳動하였다.

泳動後 acetate膜은 0.1% alcian blue-8GS를 含有한 3% acetic acid에 20分間 染色하여 1% acetic acid로 脫色한 後 流水에 잘 洗滌했다. 標準物質로서

hyaluronic acid(Fluka, Switzerland), chondroitin sulfate A,B,C(生化學工業, 東京), heparin(半井化學, 京都) 및 heparan sulfate(佐佐木研, 東京)等을 使用했다.

消化酵素로는 chondroitin sulfate ABC 및 AC(生化學工業, 東京)와 streptomyces hyaluronidase(生化學工業, 東京)를 使用하여 各各 37°C에서 16時間作用시켰다.

6. 化學組成分析

i) **Uronic acid**: 試料를 Bitter-Muir¹⁾ 法(1962)과 Dische⁶⁾ 法의 carbazole試藥을 利用하는 測定과 orcinol 反應을 利用하는 測定으로 uronic acid를 세가지 方法으로 定量하였다.

ii) **Hexosamine**: 一定量의 試料를 ampule에 넣어 冷凍乾燥시켜 4N HCl 1ml를 加해 完全히 溶解 封管하였다가 100°C에서 16시간 加水分解하여 使用하였다. 其後 Hitachi amino acid analyzer(KLA-3B型)를 使用하여 glucosamine과 galactosamine을 分離定量하였다. 이때 0.35M citrate buffer pH 5.28을 55°C 60ml/hr.의 條件으로서 sample을 溶出시켰다.

iii) **酸性뮤코多糖 微量分析**: 電氣泳動한 cellulose acetate 膜의 alcian blue-8GS 染色部位를 잘라서 5% cetylpyridinium chloride가 含有된 試驗管에 넣고 15分間 沸騰水浴內에서 alcian blue-mucopolysaccharide를 溶出한다. 其後 室溫에서 15分間 放置 615nm(nanometer)에서 盲檢에 對해 測定한다. 盲檢은 alcian-blue mucopolysaccharide spot에 이웃한 部位를 같은 크기로 잘라내어 各各 分割에 對한 盲檢을 만든다. 酸性뮤코多糖定量은 Hata와 Nagai¹²⁾ (1973)가 報告한 各多糖에 對한 測定曲線에 따라 計算한다.

第三章 實驗成績

1. 總酸性뮤코多糖量

Vitamin A 投與群과 對照群의 白鼠劍狀突起軟骨에서 얻은 總酸性뮤코多糖量은 table I에서 보는바와 같다. 即 乾燥重量 基準으로 對照群의 5.23%에 비해 vitamin A 投與群은 3.36%로서 vitamin A 投與群이 減少하였다.

Table I. Acid mucopolysaccharides in xiphoid process cartilage of rat sternum.

	Control	Vitamin A
wet weight(mg)	1400	2200
dry weight(mg)	150.5	341.5
A.M.P., Total(mg) ※	7.9	11.5
% A.M.P./dryweight	5.23	3.36

※ A.M.P. = Acid Mucopolysaccharides.

또한 table II에서 보는 바와 같이 總 uronic acid는

Table II. Uronic acid contents of whole A.M.P in xiphoid process cartilage of rat sternum.

	Control	Vitamin A
1) Bitter-Muir 法	1421 μ g	2381 μ g
% uronic acid/dry weight	0.94%	0.70%
2) Dische法(carbazole)	1469 μ g	2491 μ g
3) Orcinol	1118 μ g	2078 μ g
4) C/O ratio*	1.313	1.198

* carbazole/orcinol

對照群이 1421 μ g으로 乾燥重量의 0.94%를 차지하며 vitamin A 投與群은 2381 μ g으로 乾燥重量의 0.70%로서 對照群보다 vitamin A 投與群이 減少하였다.

c/o比는 對照群 1.313이고 vitamin A 投與群이 1.198로서 vitamin A 投與群이 iduronic acid 含量이 增加한 것으로 思料된다.

2. Hexosamine의 分析成績

Vitamin A 投與後 採取한 白鼠劍狀突起軟骨의 酸性 異性 糖中 hexosamine을 分離同定한 結果는 table III에서 보는바와 같다. hexosamine總量은 對照群에서 1513.94 μ g으로서 其中 glucosamine이 141.61 μ g(總量의 9.35%) galactosamine이 1372.33 μ g(總量의 90.65%)을 차지하여 glucosamine/galactosamine比는 0.103이었다.

Vitamin A 投與群에서는 hexosamine 總量이 2750.21 μ g으로서 이중 glucosamine이 260.83 μ g(總量의 9.48%), galactosamine이 2489.37 μ g(總量의 90.52%)을 차지하여 glucosamine/galactosamine比는 0.105였다. 以上の 結果로서 vitamin A 投與群이 對照群에 비해 galactosamine量이 微量 減少하였다. 또한 總 uronic acid와 hexosamine의 當量比는 對照群이 1:1.15인데 비해 vitamin A 投與群이 1:1.28로 나타

Table III. Hexosamine contents of xiphoid process cartilage of rat sternum.

	Control	Vitamin A
Hexosamine, total	1513.94 μ g	2750.21 μ g
Glucosamine	141.61 μ g (9.35%)	260.83 μ g (9.48%)
Galactosamine	1372.33 μ g (90.65%)	2489.37 μ g (90.52%)
Glucosamine/ Galactosamine	0.103	0.105
Mole ratio uronic acid/ hexosamine	1:1.15	1:1.28

났다.

3. Cellulose acetate膜 電氣泳動에 의한 酸性 異性 糖 微量 分析

Cellulose acetate膜上에서 電氣泳動한 酸性 異性 糖 微量 分析을 Hata와 Nagai¹²⁾(1973) 法에 의해 測定하여 百分率로 換算한 結果는 table IV와 photo에서 보는 바와 같다(photo. I-VI 參照).

Table IV. Acid mucopolysaccharide subfraction from cellulose acetate two dimensional electrophoresis.

	Control(%)	Vitamin A (%)
Chondroitin sulfate B	2.81	4.84
Chondroitin sulfate A	87.84	85.68
Hyaluronic acid	9.35	9.48

對照群에서 chondroitin sulfate A는 87.84%, chondroitin sulfate B는 2.81%로서 總 sulfated mucopolysaccharide가 90.65%이며 non-sulfated mucopolysaccharide인 hyaluronic acid는 9.35%였다.

Vitamin A 投與群에서 chondroitin sulfate A는 85.68%로서 對照群에 비해 若干 減少하였고 chondroitin sulfate B는 4.84%로서 對照群에 비해 增加를 보였다. 그런데 glucosamine은 거의가 hyaluronic acid로 構成되어 있고 galactosamine은 sulfated mucopolysaccharide인 chondroitin sulfate A와 B의 두 異性 體로 構成되어 있어 photo에서 보는바와 같이 表示할 수 있다(photo. I-VI 參照).

4. 酵素消化에 의한 酸性 異性 糖 同定

Photo. I, II에서 보는바와 같이 酵素로 處理하지 않은 試料에서는 cellulose acetate膜上에 나타난 二次元 電氣泳動像은 對照群, vitamin A 投與群 모두 hyaluronic acid와 chondroitin sulfate A에 一致하는 明瞭한 두 개의 spot가 나타나고 chondroitin sulfate B에 該當하는 色度가 적은 spot가 認定되었다.

Photo. III, IV에서 보는바와 같이 streptomyces hyaluronidase 消化後의 泳動像은 hyaluronic acid에 一致하는 spot만이 消失되었고 chondroitin sulfate A와 B에 一致하는 spot만이 남아있었다.

Chondroitin sulfate A라고 생각되는 spot는 광범위하게 나타나는데 이것은 充分히 精製되지 못했기 때문이며 chondroitin sulfate A와 B가 하나의 spot로 橢圓形을 그리며 나타난 것으로 생각된다. 이는 chondroitin sulfate B의 量이 微量이기 때문에 分離되지 않았을 것으로 思料된다.

Photo V, VI에서 보는바와 같이 chondroitinase AC로 소화한 後의 電氣泳動像은 hyaluronic acid와 chondroitin sulfate A에 一致한 spot가 完全히 消失되었고 chondroitin sulfate B라고 생각되는 spot만이 出現하였다. 이때 白色도가 짙은 것은 試料를 濃縮하여 使用한 때문이다.

Chondroitinase ABC에 依한 消化後의 電氣泳動像은 모든 spot가 消失된 像을 나타내었다.

第四章 總括 및 考按

本實驗은 vitamin A가 軟骨의 酸性류코多糖에 미치는 影響을 究明하기 爲하여 白鼠에 過量의 vitamin A를 投與하여 軟骨의 sulfated mucopolysaccharide와 non-sulfated mucopolysaccharide를 抽出分劃하여 比較檢討하였다.

Vitamin A는 代表的인 機能의 하나가 骨의 remodeling인데 缺乏時는 骨吸收樣狀이 變形되며 非正常的으로 骨이 肥大되고 過量에서는 軟骨과 骨의 吸收를 招來하며 때로는 自然骨折을 일으킬수도 있는 것이다.

Solursh²⁴⁾ (1973) 등은 vitamin A의 濃度에 따라 酸性류코多糖의 合成이 抑制된다고 하였는데 glucose나 sulfate가 多糖에 結合하는 것을 抑制하는 것이며 正確한 機轉은 잘모르지만 合成初期段階인 glucosamine-6-phosphate 合成前에 抑制됨을 推測할 수 있다고 하였다.

또한 chondroitin sulfate와 같은 sulfated mucopolysaccharide를 合成하는 課程에 있어서 sulfate가 glucosamine에 傳達되는 率보다도 glucose가 多糖으로 轉換되는 率이 더욱빨리 抑制된다고 하였다.

本實驗에서 總酸性류코多糖은 對照群 5.23%에 비해 vitamin A 投與群 3.36%로 vitamin A 投與群이 減少하였고 또한 uronic acid도 對照群 0.94%인데 vitamin A 投與群 0.70%로서 vitamin A 投與群이 減少를 나타내고 있어 先賢의 研究 成績과 一致하고 있다.

또한 chondroitin sulfate B의 構成分인 iduronic acid가 많으면 c/o比가 減少하는데 本實驗에서 vitamin A 投與群이 對照群에 비해 減少하였으므로 chondroitin sulfate B가 若干 增加한듯 하다.

Mukherji^{17), 18)} (1966)는 vitamin A가 軟骨에서 sulfate의 吸收를 抑制하고 이에 따라 uronic acid의 減少도 일어나며 또한 hypervitaminosis A는 骨端軟骨에서 3'-phosphoadenosine-5'-phosphosulfate(PAPS) 形成을 減少시키고 PAPS 合成時 vitamin A

의 作用은 蛋白分解酵素에 依해 調節된다고 하였다.

McElligott¹⁵⁾ (1962)는 過量의 vitamin A 投與로 幼弱家兔의 軟骨에 미리形成된 基質이 喪失되고 軟骨의 sulfate 固定能力이 減少된다고하였다. 其外 Brighton, Schaffzin²⁾ (1970), Lucy¹⁴⁾ (1961), Dingle^{4), 5)} (1962) 등은 hypervitaminosis A 狀態에서 組織培養實驗을 한後 軟骨實質의 分解가 促進됨을 發見하였다.

本實驗에서 hexosamine總量과 分別定量은 間接的으로 酸性류코多糖의 sulfate化를 推定할 수 있는데 glucosamine은 主로 hyaluronic acid가 構成分으로 對照群이 9.35%인데 비해 vitamin A 投與群이 9.48%로서 vitamin A 投與群이 若干增加를 보임으로 總 hexosamine中 sulfated mucopolysaccharide의 減少를 나타내고 있다.

酵素消化에 依해 觀察한 酸性류코多糖은 本實驗에서 對照群과 vitamin A 投與群 모두 hyaluronic acid, chondroitin sulfate A와 B가 나타났다(photo I-V).

人間의 軟骨에는 chondroitin sulfate D와 E가 含有되어 있다고 하나 本白鼠軟骨에서는 檢出되지 않았고 微量成分이므로 確認할 수 없었다. 또한 人間의 軟骨에 含有된 chondroitin sulfate C는 二次元電氣泳動에서 認定되지 않았으므로 白鼠에는 含有되지 않았다고 思料된다.

Vitamin A의 過量投與가 酸性류코多糖合成을 抑制한다는 많은 報告가 있고 또한 vitamin A가 過量存在하면 蛋白分解酵素가 增加되어 lysosome을 急激히 破壞하고 lysosomal enzyme이 遊離되어 軟骨을 分解한다고 Fell^{9), 10)}, Thomas²⁷⁾ (1960)가 報告하였고 Roel²¹⁾ (1969) 등은 retinol이 過量存在하면 組織破壞가 일어나는데 이는 lysosome膜의 不安定으로 lysosome에서 acid hydrolase 특히 cathepsin과 같은 酵素가 遊離됨으로서 이루어지며 酵素가 循環系로도 遊離되어 赤血球膜도 破壞한다고 하였다. 또한 Lucy¹⁴⁾ (1961)는 細胞內 protein polysaccharide의 protein chain을 分解하여 polymeric chondroitin sulfate를 遊離한다고도 하였다.

또한 Fell¹¹⁾ (1970)은 vitamin A가 組織培養實驗에서 軟骨實質을 分解할 뿐 류코多糖合成에는 影響을 미치지 않는다고 하였다.

本實驗에서 cellulose acetate膜 電氣泳動에 依한 微量分析結果 glucosamine은 全部 hyaluronic acid로 構成되어 있고 galactosamine은 sulfated mucopolysaccharide인 chondroitin sulfate A와 B로 構成되어 있어 이를 百分率로 換算하여 본 結果는 table IV와

photo I—V에서 본바와 같다.

hyaluronic acid는 對照群에 비해 vitamin A 投與群이 若干增加하였고 chondroitin sulfate A는 對照群에 비해 減少하였으며 여기에서 特記할 것은 chondroitin sulfate B가 vitamin A 投與群에서 약 2% 增加를 보였는데 vitamin A 投與와 어떤 相關關係에 있는가는 아직도 그 機轉이 알려지지 않아 앞으로 究明해 보아야 할 것이다.

第五章 結 論

本實驗은 vitamin A를 過量投與한 白鼠劍狀突起 軟骨의 酸性무코多糖의 質的 量的 變動을 cellulose acetate膜 電氣泳動, 酵素消化法을 利用한 分別定量等으로 檢討하여 다음과 같은 結論을 얻었다.

1. 總酸性 무코多糖量은 uronic acid로 表示하여 vitamin A 投與群이 對照群에 비해 減少하였다.

c/o比도 vitamin A 投與群이 減少했다.

2. Glucosamine, galactosamine 比는 對照群이 0.103이고 vitamin A 投與群이 0.105이었다.

3. 兩群에서 hyaluronic acid, chondroitin sulfate A와 B가 檢出되었다.

4. Vitamin A 投與群에서 sulfated mucopolysaccharide는 對照群에 비해 減少하였고 相對的으로 non sulfated mucopolysaccharide는 增加하였다.

5. 特히 chondroitin sulfate B는 vitamin A 投與群에서 對照群에 비해 增加추세를 보였다.

(本 論文을 完成함에 있어 始終 指導校閣하여 주신 指導教授 張完植教授님과 生化學教室 鄭泰英 教授님께 眞心으로 感謝 드립니다.)

BIBLIOGRAPHY

- 1) Bitter, T. and Muir, H.M.: A modified uronic acid carbazole reaction. Anal. Biochem. 1962, 4, 330.
- 2) Brighton, C.T. and Schaffzin, E.A.: Comparison of the effects of excess vitamin A and high oxygen tension in in vitro epiphyseal plate growth. I. Morphogenic response. Calcif. Tiss. Res. 1970, 6, 151—161.
- 3) Collazo, J.A. and Rodriguez, J.S.: Klin.

Wochenschi. 1933, 12, 1732.

- 4) Dingle, J.T., Lucy, J.A. and Fell, H.B.: Studies on the mode of action of excess of vitamin A.
2. Effect of excess of vitamin A on the metabolism and composition of embryonic chick limb cartilage grown in organ culture. Biochem. J. 1961, 79, 497.
- 5) Dingle, J.T. and Lucy, J.A.: Studies on the mode of action of excess vitamin A. 5. The effect of vitamin A on the stability of the erythrocyte membrane. Biochem. J. 1962, 84, 611.
- 6) Dische, Z.: J. Biol. Chem. 1947, 167, 189.
- 7) Fell, H.B. and Mellanby, E.: Effects of hypervitaminosis A on embryonic limb bones cultivated in vitro. J. Physio. London. 1952, 116, 320.
- 8) Fell, H.B., Mellanby, E. and Pele, S.R.: Influence of excess of vitamin A. Brit. Med. J. 1954, 2, 611.
- 9) Fell, H.B. and Thomas, L.: Comparison of the effects of papain and vitamin A on cartilage. II. The effects on organ cultures of embryonic skeletal tissue. J. Exp. Med. 1960, 111, 719—743.
- 10) Fell, H.B. and Dingle, J.T.: Studies on the mode of action of excess of vitamin A. 6. Lysosomal protease and the degradation of cartilage matrix. Biochem. J. 1963, 87, 403.
- 11) Fell, H.B.: The direct action of vitamin A on skeletal tissue in vitro in; The fat soluble vitamins(H.F. Deluca, J.W. Suttie, eds) p. 187—202 Madison, University of Wisconsin press. 1970.
- 12) Hata, R. and Nagai, Y.: Distribution of acidic glycosaminoglycans in tadpole back skin. Biochem. Biophys. Acta. 1973, 304, 408.
- 13) Herbei, G.: Effects of adrenalectomy, corticosteroids and some other anti-inflammatory agents, salazopyrin, thyroxine and vitamin A on the exchangable sulfate pool and on sulfate incorporation in vivo into costal cartilage of the mouse. Acta. pharmacol. et toxicol. 1971, 29, 164—176.

- 14) Lucy, J.A., Dingle, J.T. and Fell, H.B.: Studies on the mode of action of excess of vitamin A. 2. A possible rôle of intracellular proteases in the degradation of cartilage matrix. *Biochem. J.* 1961, 79, 500-508.
- 15) McElligott, T.F.: Decreased fixation of sulfate by chondrocytes in hypervitaminosis A. *J. Path. Bact.* Vol. 83, 1962.
- 16) Moore, T. and Wang, Y.L.: *Biochem. J.* 1945, 39, 222.
- 17) Mukherji, B. and Bachhawat, B.K.: Role of vitamin A in sulfate metabolism. Part II Studies on sulfate incorporation into mucopolysaccharides in hypervitaminotic A rats. *Indian J. Biochem.* 1966a, 3, 1-4.
- 18) Mukherji, B., Bachhawat, B.K.: Role of vitamin A in sulfate metabolism. Part III Sulfate activation in hypervitaminotic A rats. *Indian J. Biochem.* 1966b, 3, 4-6.
- 19) Perumal, A.S., Ananthasamy, T.S., Lakshmanan, M.R., Jungalwala, F.B. and Ramarao, P.B.: Biosynthesis of sulfated mucopolysaccharides in relation to vitamins A and K. *Biochem. Biophys. Acta.* 1966, 124, 95-100.
- 20) Rodahl, K.: Hypervitaminosis A, Oslo, Norsk Polarinstitut Skrifter. 95, 1950.
- 21) Roel, O.A., Anderson, O.R., Lui, N.S.T., Shah, D.O. and Trout, M.E.: Vitamin A and membranes. *Amer. J. Clin. Nutr.* 1969, 22, 1020.
- 22) Schiller, S., Slover, G.A. and Dorfman, A.: A method for the separation of acid mucopolysaccharides; Its application to the isolation of heparin from the skin of rats. *J. Biochem.* 1961, 236, 983.
- 23) Seno, N., Anno, K. and Kondo, K.: Improved method for electrophoretic separation and rapid quantitation of isomeric chondroitin sulfates on cellulose acetate strips. *Anal. Biochem.* 1970, 37, 197.
- 24) Solursh, M. and Meier, S.: The selective inhibition of mucopolysaccharide synthesis by vitamin A treatment of cultured chick embryo-chondrocytes. *Calc. Tiss. Res.* 1973, 13, 131-142.
- 25) Takahashi, K., Nakamiya, Z., Kawakami, K. and Kitasato, T.: *Soc. Pap. Inst. Phys. Chem. res., Tokyo,* 1925, 3, 81. Cited by the biochemistry and physiology of bone Vol. III ed. G.H. Boume, Academic Press. 1972.
- 26) Thomas, D.B. and Pasternak, C.A.: Vitamin A and the biosynthesis of sulfated mucopolysaccharides. *Biochem. J.* 1969, 111, 407.
- 27) Thomas, L., McCluskey, R.T., Potter, J.L. and Weissmann, G.: Comparison of the effects of papain and vitamin A on cartilage. I. The effects in rabbits. *J. Exp. Med.* 1960, 111, 704-718.
- 28) Wang, P., Glass, H.L., Goldenburg, L., Stearns, G., Kelly, H.G. and Jackson, R.L.: Serum vitamin A and carotene levels in children with rheumatic fever. *Am. J. Dis. Child,* 1954, 87, 659.
- 29) Wolbach, S.B.: Vitamin A deficiency and excess in relation to skeletal growth. *J. Bone and joint Surg.* 1947, 29, 171.
- 30) Wolf, G. and Johnson, B.C.: Vitamin A and mucopolysaccharide biosynthesis. *Vitam. & Horm.* 1960, 18, 439.
- 31) 鄭泰英, 李德根, 金有鳳等: 發癌過程의 結締組織被膜誘發腫瘍의 酸性무코多糖에 관한 研究. 最新醫學, 1975, 18卷 5號.

各種 齒科機器 및 材料 ○ 賣買 ○ 修理 ○ 配達

大光齒科材料商會

代表 全 洪 基

서울特別市 中區 南大門路 5街 63番地 (이화茶房 2層)

TEL. (22) 1753

ACID MUCOPOLYSACCHARIDE IN XIPHOID PROCESS OF RATS UNDER
HYPERVITAMINOSIS A.

Kil Nyun Kim, D.D.S., M.S.D.

Department of Prosthodontics, Graduate School, Seoul National University

(Directed by Prof. Wan Shik Chang, D.D.S., Ph.D.)

Normal albino rats of either sex with an approximate weight of 100gm were used throughout this investigation.

The rats were orally administered with 10,000 I.U. of vitamin A daily for 45 days.

The rats were killed after the administration of vitamin A, and xiphoid processes were removed from both groups.

Rough acid mucopolysaccharides were isolated through a proteolytic digestion of pronase.

The components of acid mucopolysaccharide were studied by means of two dimensional electrophoresis on a cellulose acetate strip, hexosamine analysis, chondroitin sulfate isomer analysis and enzymatic method.

The results obtained were as follows.

1. It was shown that the administration of a large amount of vitamin A to albino rats resulted in depletion of cartilage matrix.

The total amount of acid mucopolysaccharide showed a decrease in the group administered with vitamin A.

The c/o ratio also decreased in the group administered with vitamin A.

2. The amount of galactosamine was decreased slightly in the group administered with vitamin A.

3. Hyaluronic acid, chondroitin sulfate A and B on the cellulose acetate strip by two dimensional electrophoresis showed themselves in both groups.

4. Sulfated mucopolysaccharides showed a decrease in the group administered with vitamin A. On the other hand, non-sulfated mucopolysaccharides showed an increase in the group administered with vitamin A compared with the control group.

These changes are interpreted as indicating that the administration of a large amount of vitamin A to rats results in the removal of chondroitin sulfate from cartilage matrix.

5. Especially chondroitin sulfate B showed an increase in the group administered with vitamin A.

THE PICTURE OF TWO DIMENSIONAL ELECTROPHORESIS

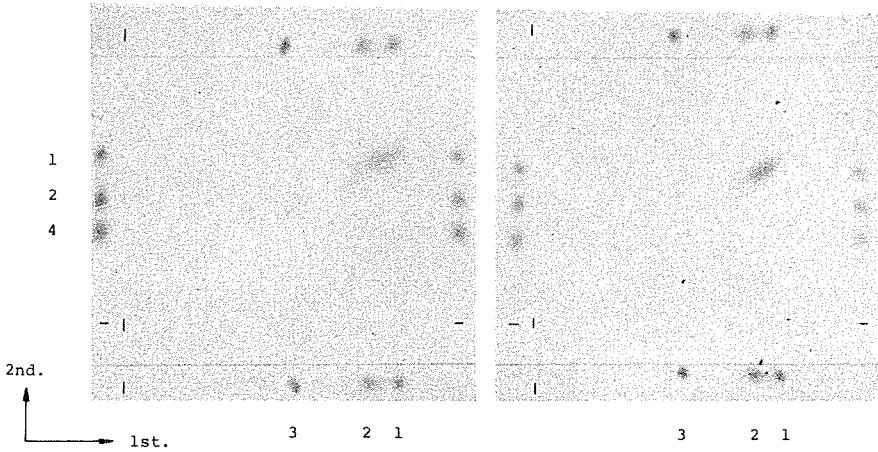


Photo. I. control

Photo. II. Vitamin A

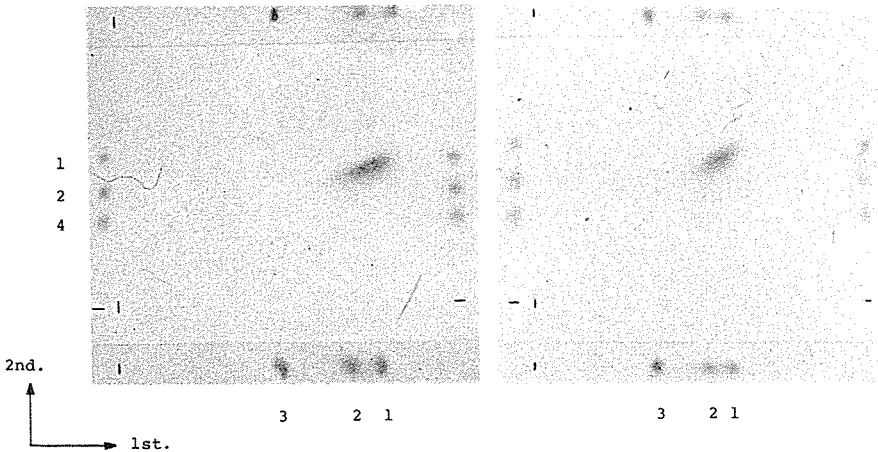


Photo. III. Control + Streptomyces hyaluronidase.

Photo. IV. Vitamin A + Streptomyces hyaluronidase.

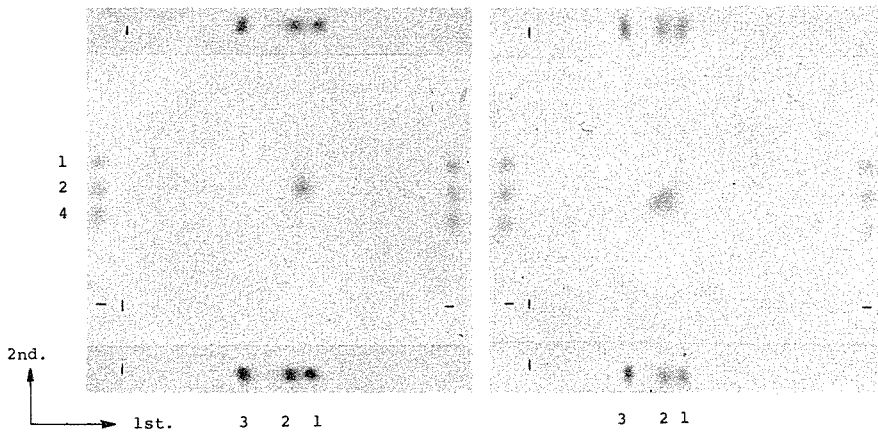


Photo. V. Control + Chase AC

Photo. VI. Vitamin A + Chase AC.

STANDARD SAMPLE

- 1. Chondroitin sulfate A
- 2. Chondroitin sulfate B
- 3. Hyaluronic acid
- 4. Heparin