

치수에서 Ca^{++} -ATPase와 Mg^{++} -ATPase의 활성도에 관한 실험적 연구

연세대학교 치과대학 소아치과학교실

황 인 성 · 이 종 갑

I. 서 론

일반적으로 치수는 건강한 상태에서 기초적인 생리적 기능을 하고 병변시에는 치수를 보호하는 방어기전이 생기게 된다. 즉 치수는 치질의 각 성분을 만들고 신경섬유나 상아질 등에 영양을 공급하며, 동통을 지각하는 작용과 염증에 대한 방어기전 및 이차적인 상아질 형성에 관여한다.¹⁾ 치수에서 신진대사 과정에 관여하는 효소의 작용에 대해 잘 인식되어있지 않으므로 그 성질을 밝혀보고자 하여 많은 연구가 보고되었다. 특히 Ca^{++} 이동에 관여하며 여러가지 반응시 필요한 에너지를 공급하는 ATP를 분해하는 것으로 알려진 Ca^{++} -ATPase와 Mg^{++} -ATPase에 대해서 다방면의 시도가 있었다.^{2, 3, 10, 11, 12, 13, 14, 21, 23)}

Guo & Messer¹¹⁾는 쥐의 전치에서 치수를 분리하여 ATP에서 inorganic phosphate가 유리되는 것을 측정함으로써 ATPase의 활성도를 살펴보았으며 Yoshimura & Suzuki³⁵⁾는 porcine fetus의 치배에서 ATPase가 존재함을 확인하였고 sarcoplasmic reticulum(Mac Lennan²⁰⁾), 적혈구(Schatzmann & Rossi²⁸⁾), 장(Martin et al²³⁾), 태반(Shami & Radde²⁷⁾), 신장(Messer et al²⁴⁾) 등의 여러 조직에서 그 존재가 확인되었다. 이러한 Ca^{++} -ATPase와 Mg^{++} -ATPase의 활성도는 다른 기관에서 보다 비장과 치수에서 특히 더 높았다고 하였다. Messer & Reade²⁴⁾는 반응시 필요한 이가의 양이온에 따라 두 종류로 구분하였고 Weidmann¹²⁾ Heyden¹³⁾ 등은 그 역할에 대해 보고하였다. Heyden & From¹³⁾은 백서의 하악제일대구치 법랑질과 상아질에서 기질형성과 ATPase 활성과의 관계를 연구 보고하였으며

Granström & Linde¹⁰⁾도 백서의 전치 odontoblast에서 Ca^{++} 이 받아들여지는 과정을 살펴보았다. 이상의 연구보고와 같이 Ca^{++} -ATPase와 Mg^{++} -ATPase는 치수의 생리적인 작용 및 기능에 대해 중요한 기능을 수행하는 바 국내에서는 이에 대한 연구보고가 아직 없었기에 저자는 이에 착안, 여러상태의 치아를 선정하여 Ca^{++} -ATPase와 Mg^{++} -ATPase의 활성도를 분광광도계로 측정하여 다소의 지견을 얻은바 이에 보고하는 바이다.

II. 실험재료 및 방법

가. 실험재료

실험재료는 Y대학 부속병원에 내원한 환자로 부터 발치한 242개의 치아를 5개군으로 나누어 다음 기준에 의해 선택하였고 발치한 치아는 즉시 냉동 보관하였다.

1군) 정상치아군(48개)

- 가) 치아우식증과 수복물이 없는 영구치
- 나) 치주질환이 없는 생활치수인 치아

2군) 우식치아군(46개)

- 가) 상아질 침범정도의 치아
- 나) 치수염이나 치주질환 등에 의해 실패치수가 되지않은 치아

3군) 실패치군(49개)

- 가) 치수가 침범된 정도의 우식증이 있어 치수 피사의 양상을 보이는 치아
- 나) 치근단 농양이 유발된 치아
- 다) 외상을 받아 실패치수가 된 치아

4군) 치근미완성군(53개)

- 가) 치근이 발육중인 치근단 미완성치아
- 나) 치근단 발육중인 제3대구치나 교정치료를

위해 발치한 치아
5 군) 유치군(46개)
치근흡수가 시작된 유치

나. 실험방법

1) 치수표본

각군별로 냉동된 치아를 dissection하여 작은 excavator로 치수를 제거하여 0.25M-sucrose 5ml에 담근다. 0.25M-sucrose는 87g의 sucrose를 정량하여 1ℓ volumetric flask에 담고 1ℓ까지 증류수로 채운다.

2) 효소분리(Enzyme isolation)

효소분리는 Post & Sen²⁶⁾의 방법에 따라 시행하였다. 치수표본을 15ml 원심분리관에 옮기고 25℃에서 SORVALL, RC-5B로 SE-12, ROTOR에서 7,000rpm으로 10분간 원심분리하고 상층액은 버린 후 침전물에 homogenizing solution 1.2ml를 가한다. 즉 처음에 0.5ml로 침전물을 녹여 glass homogenizer에 옮긴 다음 다시 homogenizing solution 0.5ml를 넣어 원심분리관을 씻어내고 마지막으로 homogenizing solution 0.2ml를 넣어 완전히 씻어 homogenizer에 옮긴다.

이 침전물을 포함한 용액을 glass homogenizer로 10회 homogenize한 다음 용량 15ml의 원심분리관에 넣고 SE-12 ROTOR에서 2,025rpm으로 10분동안 원심분리한다. 상층액을 보관하고 침전물을 계속하여 2번 homogenization한다. 마지막 침전물은 버리고 3개의 상층액을 혼합하여 homogenizing solution으로 320ml까지 희석한다. 이 용액을 L2-65 Beckman ultracentrifuger에서 ROTOR 65로 초원심분리한다. 이때의 침전물은 상층이 투명하고 옅한 노란색의 membrane층이고 하층이 어두운 갈색층으로 mitochondria이다. 상층액을 aspiration해 버리고 마지막 membrane preparation을 0.5M-imidazole, 5mM-tris-HCl(pH 7.5) buffer용액 1ml로 녹인다. 효소 용액을 4℃로 보관하고 3일내에 사용하였다.

(시약제조)

Homogenizing solution : sucrose 87g, NaCl 1.2g, Na₂EDTA 1.86g 과 MgCl₂·6H₂O 0.2g, 0.68g의 imidazole을 정량하여 100ml비이커에 옮기고 증류수로 조금씩 녹여 1ℓ volumetric flask에 옮겨 넣고 1ℓ까지 채운후 4℃로 보관한다.

3) 효소 분석(Enzyme assay)

효소를 분리한 치수표본 0.1ml를 취하고 여기에 시약A⁻¹ 1.0ml와 시약B 0.1ml를 가하여 섞은 후 잘 혼합하여 37℃에서 30분간 incubation한 후에 10

% TCA 1.0ml를 넣어 반응을 종결시킨다. 다음 Ca⁺⁺-ATPase의 활성을 측정하기 위해서는 치수표본 0.1ml를 취하고 시약A⁻² 1.0ml와 시약B 0.1ml를 가하여 섞은후 같은 방법으로 incubation후 반응을 정지시킨다.

Ca⁺⁺-ATPase와 Mg⁺⁺-ATPase의 활성을 측정하기 위한 실험은 시약 A⁻³ 1.0ml와 시약B 0.1ml를 치수표본 0.1ml에 잘 섞고 역시 같은 방법으로 37℃에서 30분간 incubation한 후에 10% TCA 1.0ml를 넣어 반응을 종결시킨다. 이후 단백질의 정량은 Lowry et al²⁷⁾의 방법으로 시행하고 ATP hydrolysis는 inorganic phosphate의 유리되는 정도로 정량하였다. (Tausky & Shorr²⁸⁾)

(시약제조)

시약A⁻¹ : 6mM-MgCl₂ · 4H₂O

시약A⁻² : 6mM-CaCl₂ · 4H₂O

시약A⁻³ : 3mM-MgCl₂ · 4H₂O와 3mM-CaCl₂ · 4H₂O를 혼합하여 시약A⁻¹중의 6mM-MgCl₂ · 4H₂O와 대치하여 사용.

시약B : 60mM ATP용액을 100cc로 만들어 4℃에 보관한다.

가) 단백질 정량

소의 혈청 albumin(Sigma 제품) 100mg을 생리식염수에 녹이고 100ml까지 희석한다. (stock standard protein solution, 1mg/ml)

이 stock standard protein solution을 10배 희석하여 working standard solution으로 사용한다. 이 용액을 각각 0ml, 0.1ml, 0.2ml, 0.4ml, 0.6ml, 0.8ml, 1.0ml를 취해 각각 시험관에 옮기고 증류수로 1ml까지 채운다음 5ml의 reagent C를 가하고 섞은 후 실온에서 정확히 10분간 방치한 다음 여기에 희석한 phenol reagent 0.5ml를 가하고 즉시 혼합한 다음 실온에서 30분간 방치후 Gilford spectrophotometer 파장 750nm에서 흡광도를 측정하여 표준곡선을 얻었다.

(시약제조)

Reagent A : 0.1N NaOH에 녹인 2% Na₂CO₃

Reagent B : 1% sodium 또는 potassium tartarate에 녹인 0.5% CuSO₄ · 5H₂O의 용액으로 사용직전에 만들어 사용하였다.

Reagent C : Reagent A 50ml와 ReagentB 1ml를 사용직전에 섞어 사용하였다.

이후 단백질 정량은 위와 같은 방법으로 standard solution 대신 incubation했던 표본을 넣어 3번씩 정량한다.

나) Inorganic phosphate 정량

치수표본 0.2cc를 취하여 여기에 12% TCA 3.5 ml를 가한다. 혼합물을 잘 섞고 30분간 실온에 방치 후 30분간 1500rpm으로 원심분리한다. 상층액을 취하여 colorimeter tube에 넣고 여기에 ferrous-sulfate molybdate reagent 2cc를 가한다. 이 Gilford spectrophotometer로 파장 660nm에서 흡도를 측정한다.

III. 실험 성적

가. Ca⁺⁺-ATPase에 의한 활성화도

효소를 분리한 치수표본에 ATP용액을 넣고 6 μl Ca⁺⁺을 가하여 활성화 시킨 Ca⁺⁺-ATPase의 활성을 측정할 결과 치수상태에 병변이 없는 정상아군에서는 Ca⁺⁺-ATPase의 활성이 23.02 μmol of protein/30min.이었으며 우식치아군에서는 .82 μmol로 나타났다. 한편 치수가 생활력을 상한 실험치근에서는 활성이 12.95 μmol로 현저히 소하였다. 또한 치근이 발육중인 치근미완성군에는 정상치아군보다 18.8%가 증가한 28.36 μmol 가장 높은 활성을 나타내었다. 유치군은 14. μmol 정도의 활성을 보였다.(Table 1, Figure 참조)

나. Mg⁺⁺-ATPase에 의한 활성화도

효소를 분리한 치수표본에 ATP용액을 넣고 6 μl Mg⁺⁺을 가하여 활성화 시킨 Mg⁺⁺-ATPase의 활성을 측정할 결과 치아우식증과 수복물이 없고 주질환등에 의해 치수의 생활력을 상실치 않은 1군에서는 24.11 μmol/mg of protein/30min.로

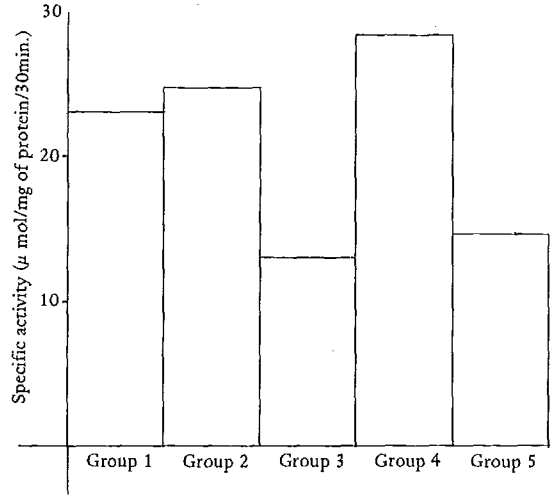


Fig. 1. Ca⁺⁺-ATPase activity

나타났고 치수를 침범치 않은 정도의 우식증이 있는 제 2 군에서는 26.88 μmol 이었고 치수의 생활력을 상실한 제 3 군에서는 15.64 μmol로 현저히 감소하였다. 한편, 치근발육중인 제 4 군은 활성이 현저히 증가하여 정상치아군보다 28.7%가 증가한 33.79 μmol을 보였고 교환을 위해 흡수가 시작된 유치군에서는 아주 적은 14.17 μmol을 나타내었다.(Table 2, Figure 2 참조)

다. (Ca⁺⁺+Mg⁺⁺)-ATPase에 의한 활성화도

치수표본에 ATP용액을 넣고 각각 3mM의 Ca⁺⁺과 Mg⁺⁺을 가하여 자극시킨 (Ca⁺⁺+Mg⁺⁺)-ATPase의 활성은 전반적으로 Ca⁺⁺만이나 Mg⁺⁺만에 의해 얻은 ATPase 활성보다 약간 컸으나 유의성있

Ca⁺⁺-ATPase activity

Table 1. (u mol/mg protein/min.)

	number of sample	minium	maximum	Mean	S.E.	S.D.	T-value	Probability
Group 1	15	14.59	28.46	23.02	0.75	2.90		
Group 2	15	18.95	33.20	24.82	0.83	3.21	1.6105	0.05<P
Group 3	17	6.46	18.68	12.95	0.68	2.81	-9.9654	P<0.001 ***
Group 4	18	18.31	36.19	28.36	1.38	5.83	3.2237	P<0.01 **
Group 5	16	8.44	22.42	14.83	0.86	3.45	-7.1153	P<0.001 ***

Mg⁺⁺-ATP ase activity

Table 2. (u mol/mg protein/30 min.)

	number of sample	minimum	maximum	Mean	S.E.	S.D.	T-value	Probability
Group 1	17	17.56	34.32	24.11	0.79	3.24		
Group 2	14	20.46	33.87	26.88	0.59	2.80	1.5177	P>0.05
Group 3	16	11.38	21.78	15.64	0.71	2.84	-7.9736	P<0.01 ***
Group 4	18	16.56	43.04	33.79	1.86	7.89	4.6974	P<0.001 ***
Group 5	15	7.23	23.10	14.17	0.81	3.12	-7.3196	P<0.001 ***

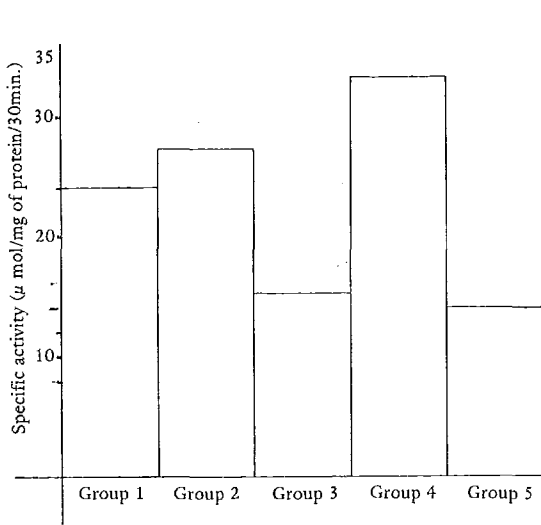


Fig. 2. Mg⁺⁺-ATPase activity

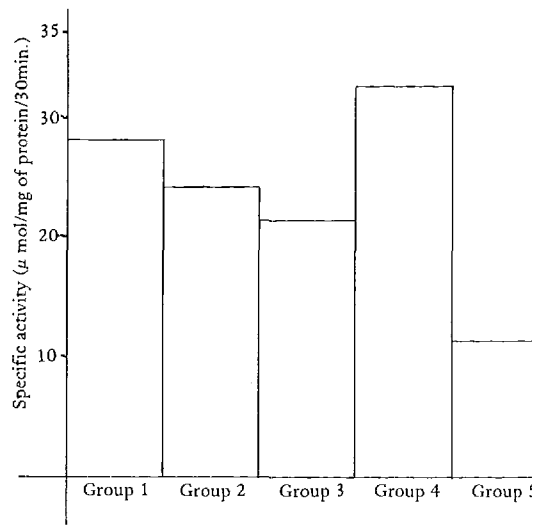


Fig. 3. (Ca⁺⁺+Mg⁺⁺)-ATPase activity

(Ca⁺⁺+Mg⁺⁺) - ATP ase activity

Table 3. (u mol/mg protein/30 min)

	number of sample	minium	maximum	Mean	S.E.	S.D.	T-value	Probability
Group 1	16	22.48	37.08	28.09	0.70	2.81		
Group 2	17	16.70	34.66	24.53	0.93	3.84	-2.0246	P>0.05
Group 3	16	12.56	31.17	21.26	1.00	3.99	-5.5988	P<0.001 ***
Group 4	17	24.13	51.55	32.23	1.38	5.67	2.6299	P<0.02 **
Group 5	15	2.98	20.78	11.39	1.09	4.24	-13.0072	P<0.001 ***

증가는 없었다. 제 1 군에서는 28.09 μmol 로 나타났고 제 2 군에서는 $\text{Ca}^{++}\text{-ATPase}$ 와 $\text{Mg}^{++}\text{-ATPase}$ 에 의한 활성보다 오히려 적은 24.53 μmol 을 나타내었다. 치수가 생활력을 상실한 제 3 군에서는 1, 2 군과 차이가 없이 21.26 μmol 의 활성을 보였고, 제 4 군에서는 32.23 μmol 로 나타났다. 유근에서는 훨씬 적은 11.39 μmol 을 나타내었다. (Table 3, Figure 3 참조)

IV. 총괄 및 고찰

$\text{Ca}^{++}\text{-ATPase}$ 와 $\text{Mg}^{++}\text{-ATPase}$ 의 활성을 각군별 비교한 결과를 보면 치근이 발육중인 $\text{Ca}^{++}\text{-ATPase}$ 의 활성이 현저히 증가하여 치근이 완성된 단치근보다 유의성이 있는 18.8%가 증가하였다. 치근 발육중인 치아에서 $\text{Ca}^{++}\text{-ATPase}$ 와 $\text{Mg}^{++}\text{-ATPase}$ 의 활성이 증가한 것은 odontoblast와 subodontoblast층에서 상아질의 석회화를 위해 필요한 Ca^{++} 농도가 왕성하게 일어남으로써 세포외액에 Ca^{++} 농도가 충분히 됨을 의미한다.¹¹⁾ 이때 odontoblast층에 많이 내포되어있는 alkaline phosphatase의 활성도 증가하여 유리된 PO_4^{-3} 와 더불어 불용성인 인산염이 된다. 이로써 상아질의 석회화가 촉진되게 된다. 이같은 과정에 대해 Scheraga¹²⁾ & Weidmann¹³⁾의 연구보고에 의하면 P는 골의 유기질을 인산화시키거나 hydroxyapatite의 결정이 자라는 핵중심으로 전환시킴으로서 석회화 시킨다고 하였고, 또한 이때에 $\text{Ca}^{++}\text{-ATPase}$ 와 $\text{Mg}^{++}\text{-ATPase}$ 는 인이온을 법랑질과 상아질 공급시켜줌으로써 무기질화 과정에 참여케 된다 하였다. 또한 Heyden & Arwill¹⁴⁾은 ATP의 말단 인을 분리하는 효소의 군을 ATPase라 설명하고 동물세포에서 ATP는 인과 에너지의 공급원으로 사용된다고 하였다. 이러한 가정에 의해 Carr, de Bernard & Lagrange⁶⁾는 핵이론을 주장했는데 ATP분리 효소는 무기질화의 핵을 형성하는 유기질을 인산화시키고, 또한 골과 치아에서 orthophosphate(double phosphoric acid)는 석회화시킴으로써 요소이나 이때 효소의 hydrolysis를 통해 single phosphoric acid로 분해되고 따라서 경조직 형성에서 orthophosphate를 유리하는 ATPase의 활성을 확인할 수 있다고 하였다. 본 연구의 결과와 같이 ATPase 활성이 증가한 바에 대해 Heyden & Arwill¹⁴⁾은 위에서 치아형성중 ATPase활성을 조직학적으로 살펴보았는데 아주 많은 양의 인이온을

감별할 수 있었다고 하였다. 즉 분화세포는 많은 에너지를 필요로 하는데 그 대부분을 ATPase활성에 의한 ATPhydrolysis를 통해 얻어내었다고 하였다. 이러한 ATPase활성의 증가는 ATP수준의 변화와도 관계가 있는데 정상치아와 병변시 ATP 수준을 살펴본 Le Bell¹⁵⁾의 보고에 의하면 치근이 3/4정도 형성된 치아에서 유의성있는 ATP hydrolysis의 증가가 있었고 치근단이 완성된 후 ATP수준이 현저한 감소가 있었다고 하였다. 이는 본 연구 결과와도 일치하며 치근단미완성시의 높은 ATP 수준은 급속한 ATP형성과 파괴가 이상 상태에서 일어남을 의미하고 따라서 에너지대사는 치근완성후 저하되는 것으로 생각된다.

법랑질과 상아질에 우식증이 있는 제 2 군에서는 ATPase 활성이 거의 변화가 없었는데 Lääkkö & Larmas¹⁶⁾의 보고에 의하면 치아우식증의 초기단계 시에 치수주위의 상아질에서 ATP수준이 증가한다고 했으나 여기서 보고된 치수의 ATP수준은 상아질보다 100~200배가 높았으므로 치아우식증이 있는 경우 치수의 ATP수준에 변화를 주지않음을 알 수 있다. 실험치수군의 $\text{Ca}^{++}\text{-ATPase}$ 와 $\text{Mg}^{++}\text{-ATPase}$ 의 활성은 정상치아군에 비해 35%~45% 정도가 낮은 통계적으로 의미있는 변화를 보였다. (Table 1, 2 참조) 이러한 변화는 치수가 손상을 받은 경우 세포가 파괴되고 mitochondria가 손상을 입게 되므로 ATP농도의 급속한 감소를 유발하고 ATPase활성이 떨어지게 되어 나타나는 현상이다. 즉 ATP소비가 합성을 능가하게 된다. Le Bell & M. Larmas¹⁶⁾의 보고에 의하면 치수가 피사된 ATP의 수준은 상아질의 수준과 같은 정도의 양이라고 하였다. 치근미완성군과 실험치수군에서 Ca^{++} 과 Mg^{++} 에 의해 자극된 효소에 활성은 거의 비슷한 정도의 증감을 보였으며, 따라서 서로 작용기전이 유사함을 알 수 있다. 치수표본에 농도를 반으로 줄인 Ca^{++} 과 Mg^{++} 을 같이 넣고 환성화시켜 ($\text{Ca}^{++} + \text{Mg}^{++}$)-ATPase 활성을 측정할 결과를 보면 Ca^{++} 만이나 Mg^{++} 만을 넣고 측정할 값과 별로 차이가 없으며 각군별로도 유의성있는 차이가 없다. ($P < 0.05$) (Table 3 참조) 이는 Abiko¹⁷⁾의 보고에서와 같이 $\text{Ca}^{++}\text{-ATPase}$, $\text{Mg}^{++}\text{-ATPase}$ 는 활성화를 위해 두가지 유형의 이가의 양이온을 필요로 하는데 치수의 ATPase는 Ca^{++} 만이나 또는 Mg^{++} 만에 의해 활성화된다는 결과와 일치한다. 즉 Ca^{++} 에 의해 활성화되고 Mg^{++} 이 요구되는 유형일 경우 ATPase 활성은 반감되어야 하나 본 연구의 결과를 거의 비슷한 결

Comparison of activity with various divalent cation.

Table 4. (mol/mg protein/30 min).

	Ca ⁺⁺ -ATPase	Mg ⁺⁺ -ATPase	(Ca ⁺⁺ +Mg ⁺⁺)-ATPase
Group 1	23.02 ± 2.90	24.11 ± 3.24	28.09 ± 2.81
Group 2	24.82 ± 3.21	26.88 ± 2.80	24.53 ± 3.84
Group 3	12.95 ± 2.81	15.64 ± 2.84	21.26 ± 3.99
Group 4	28.36 ± 5.83	33.79 ± 7.89	32.23 ± 5.67
Group 5	14.83 ± 3.45	14.17 ± 3.12	11.39 ± 4.24

과를 보였다. Guo & Messer¹¹⁾의 보고에서도 치수는 골과 마찬가지로 Ca⁺⁺이나 Mg⁺⁺단독으로만 활성화 된다고 했다.

한편, 유치군에서는 치근흡수가 시작된 치수표본이므로 이상태의 유치는 영구치 맹출에 따른 압력에 의해 odontoclast가 치근의 점진적 흡수를 유발한다.⁴⁾ 따라서 치수도 정상적인 기능을 상실케 되어 ATPase 활성이 본연구의 결과와 같이 감소하게 된다. (Table.4 참조)

V. 결 론

저자는 Y대 부속병원에 내원한 환자의 정상치아와 병변이 유발된 치아, 치근 발육중인 치아 및 유치에서 치수표본을 분리하여 Ca⁺⁺-ATPase와 Mg⁺⁺-ATPase의 생리적인 기능 및 작용기전을 살펴보고자 하여 Ca⁺⁺-ATPase와 Mg⁺⁺-ATPase의 활성도를 분광광도계로 측정하여 비교분석함으로써 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 치근발육중인 치아에서 Ca⁺⁺-ATPase와 Mg⁺⁺-ATPase의 활성도가 현저히 증가하였다.
2. 치수가 생활력을 상실한 치아에서는 Ca⁺⁺-ATPase와 Mg⁺⁺-ATPase의 활성도가 현저히 감소하였다.
3. 치근흡수가 시작된 유치에서는 Ca⁺⁺-ATPase와 Mg⁺⁺-ATPase의 활성도가 현저히 감소하였다.
4. 치아우식증과 Ca⁺⁺-ATPase, Mg⁺⁺-ATPase의 활성과는 무관한 것으로 보인다.
5. 치수의 ATPase는 Ca⁺⁺이나 Mg⁺⁺에 의해 단독으로 활성화되고 서로 연관작용은 없다.

참 고 문 헌

1. Abiko, Y.: Studies on calcium stimulated adenosine triphosphatase in the albino rabbit dental pulp; its subcellular distribution and properties, J Dent Res 56:1558-1567, 1977.
2. _____ et al: Ca⁺⁺ -stimulated adenosine triphosphatase in dental pulp of albino rabbit, J. Dent Res 56-91, 1977.
3. Andrew H. Lichtman et al: Calcium transport and calcium ATPase activity in human lymphocyte plasma membrane vesicles Biol Chem 256:6148-6154, 1981.
4. A.Richard Ten Cate: Shedding of deciduous teeth, Orvan's oral histologys & embryology 8th ed; 376-394, 1976.
5. Arlen R. Sererson; Histochemical demonstration of nucleoside triphosphate hydrolysis in the mouse dentition, Acta histochemica Bd. 40, S.86-97, 1971.
6. Cartier, P. et al: Studies on the repair fracture using P³².; Symposium on bone structure and metabolism. Churchill, London 1956.
7. Cunningham K.W. et al: The effect of formalin & glutaraldehyde on certain enzymes in bovine dental pulp, Oral Surg 54:100-103, 1982.
8. Fred L. Larsen & Frank F. Vincenzi: C

- cium transport across the plasma membrane; Stimulation by calmodulin, *Science* 204: 306-308, 1979.
9. Glimcher, M.J.: Molecular biology of the mineralized tissues with particular references to bone, *Rev. mod. phys.* 31, 359-393, 1959. (cited from 2)
 0. Granström G, et al: ATP-dependent uptake of Ca^{++} by a microsomal fraction from rat incisor pulp, *Calcif Tissue Int* 33:125-128, 1981.
 1. Guo, M.K. and Messor, H.H.: Properties of Ca^{++} , Mg^{++} -activated adenosinetriphosphatase from rat incisor pulp, *Arch Oral Biol* 21:637-640, 1976.
 2. Heyden, G. and Arwill: Some current concepts on mineralization, *Swed. Dent. J.* 64: 289-292, 1971.
 3. _____ and From, S.H.: A histochemical demonstration of ATPase activity during tooth ontogeny in the mouse, *Arch Oral Biol* 14:1225-1232, 1969.
 4. James J.Vogel: Mineralization of bones and teeth, *Dent Biochem* 61-69, 1968.
 5. Kennedy J.P.: Histochemistry of developing teeth, *Dent Biochem* 50-60, 1968.
 6. Laikko, I.: Changes in the enzymatic Ca^{++} -and Mg^{++} -activated ATP hydrolysis in normal and carious human dentin, unpublished data. (cited from 2)
 7. Larsen F.L. et al: Calcium transport across the plasma membrane; Stimulation by calmodulin, *Science* 204 (4390): 308-309, 1979.
 8. Le Bell, Y. and Larmas, M.: Adenosine-5'-triphosphate levels of the human tooth pulp during health and disease, *Arch Oral Biol* 24:313-315, 1979.
 9. Lowry O.H. et al: Protein measurement with the folin phenol reagent: *J Biol Chem* 193: 265-275, 1951.
 0. Mac Lennan D.H.: Purification and properties of an adenosine triphosphatase from sarcoplasmic reticulum, *J Biol Chem* 245: 45108-45118, 1970.
 21. Magnusson, B.C.: The effect of magnesium and calcium ions on phosphate activities at alkaline pH in the molar region of newborn mice, *Histochemistry* 42:211-219, 1974.
 23. Martin, D.L. et al: Vitamine D-stimulated calcium dependent adenosine tri-phosphatase from brush borders of small intestine, *biochim Biophys Res Commun* 35:819-823, 1969.
 24. Messor, H.H. et al: Distribution of Ca^{++} , Mg^{++} - ATPase activity in bovine dental pulp, *J Dent Res* 57:903, 1978.
 25. _____ and GUO, M.K.: Lack of relation of pulp Ca^{++} -, Mg^{++} - ATPase to mineralization rate in rat incisor dentin in response to vitamine D and calcium intake, *Arch Oral Biol* 24:271-275, 1979.
 26. Post R.L. & Sen A.K.: Sodium & Potassium-Stimulated ATPase, *Methods in Enzym* 10: 762-768, 1967.
 27. Schami, Y. and Radde I.C.: Calcium -stimulated ATPase of giunea pig placenta. *Biochim, Biophys. Acta* 269:345-352, 1971.
 28. Schatzmann, H.J. and Rossi, G.L.: (Ca^{++} + Mg^{++}) -activated membrane ATPases in human red cells and their possible relations to cation transport, *Biochim biophys Acta* 241:379-392, 1971.
 29. Shunsuke Furuyama et al: Studies of Ca^{++} -stimulated adenosine triphosphatase in rat submandibular glands: its distribution and properties: *J Dent Res* 54:32-40, 1975.
 30. Stone T.W.: Physiologic roles for adenosine 5-triphosphate in the nervous system, *Neuroscience* 6:523-555, 1981.
 31. Taussky H. and Shorr E.: A microcolorimetric method for the determination of the inorganic phosphorus: *J Biol Chem* 202:675-685, 1953.
 32. Weidmann, S.M.: Review of modern. concepts on calcification, *Arch oral Biol* 1:259-

- 264, 1959.
33. Yrsa Le Bell: Ca^{++} -, and Mg^{++} -activated ATP hydrolysis in human tooth pulp, J Dent Res 60:128-133, 1981.
 34. Y. Le Bell and M. Larmas: A quantitative study of α -aminoacylpeptide hydrolase activity in dental pulp: Arch Oral Biol 21: 195-199, 1976.
 35. Yoshimura, F. and Suzuki, T.: Calcium-stimulated, Adenosine triphosphatase in the microsomal fraction of tooth germ from porcine fetus, Biochim Biophys Acta 410: 167-177m 1975.
 36. Yuichi Takakuwa and Touru Kanazawa: Reaction mechanism of $(\text{Ca}^{++}, \text{Mg}^{++})$ -ATPase of sarcolplasmic reticulum vesicles; I. phosphoenzyme with bound Ca^{++} which is exposed to the external medium, J Biol Chem 256:2681-2695, 1981.
 37. _____: II. (ATP, ADP)-dependent Ca^{++} - Ca^{++} exchange across the membranes. J Biol Chem 256-2696-2700, 1981.
 38. 강두희 : Role of calcium & phosphate and bone formation, 생리학. 420-421, 1978.
 39. 안용호 : 백서간장 세포내 NADP-linked Isocitrate Dehydrogenase에 관한 연구. 연세의대 논문집, 13, No. 2, 1980.

A BIOCHEMICAL STUDY OF Ca^{++} -ATPASE AND Mg^{++} -ATPASE ACTIVITY IN HUMAN DENTAL PULP

In Sung Hwang, Jong Gap Lee

Dept. of Pedodontics College of Dentistry Yonsei University

This study was undertaken to evaluate the physiological roles & mechanism of Ca^{++} -ATPase & Mg^{++} -ATPase in human dental pulp. Each specimen of dental pulp was obtained from the freshly extracted, freeze-dried 242 teeth. Ca^{++} -ATPase & Mg^{++} -ATPase activity were measured by the release of inorganic phosphate & protein with Spectrophotometer.

The results were as follows;

1. The Ca^{++} -ATPase & Mg^{++} -ATPase activity were significantly increased in developing teeth.
2. The Ca^{++} -ATPase & Mg^{++} -ATPase activity were significantly decreased in nonvital teeth.
3. The Ca^{++} -ATPase & Mg^{++} -ATPase activity were significant decreased in deciduous teeth.
4. The Ca^{++} -ATPase & Mg^{++} -ATPase activity didn't have relation with dental caries.
5. The Ca^{++} -ATPase & Mg^{++} -ATPase were activated by either Ca^{++} alone or Mg^{++} alone.