

취외분비에 미치는 cyclic nucleotides의 역할*

延世大學校 醫科大學 藥理學教室

李 香 雨 · 金 源 准 · 洪 思 爽

=Abstract=

Intracellular Messenger Role of Cyclic Nucleotides in Exocrine Secretion of Guinea Pig Pancreas

H.W. Lee W.J. Kim and S.S. Hong

*Department of Pharmacology Yonsei University College of Medicine
Seoul, Korea*

In 1968, Case et al. first studied the importance of cyclic AMP as an intermediate in the action of secretin and cholecystokinin-pancreozymin and they suggested that the action of secretin, not that of cholecystokinin-pancreozymin, may be mediated through cyclic AMP. Recently Albano et al. reported that in the exocrine pancreas each of the two major physiological functions is modulated a specific cyclic nucleotide, enzyme secretion by cyclic GMP, and fluid and ionic secretion by cyclic AMP. But in pancreas still conflicting results have been reported on the role of cyclic nucleotides in enzyme and electrolyte secretion.

In these study, the role of cyclic nucleotides in the exocrine pancreatic secretion was examined. The results are as follows.

1) Very strong stimulation on amylase release from guinea pig pancreatic slice was produced by 1 unit of cholecystokinin-pancreozymin but as compared to that of cholecystokinin-pancreozymin very weak response was observed by 1 unit of secretin or 1 μ g of VIP.

2) Both cholecystokinin-pancreozymin and acetylcholine produced a rapid and marked rise in cyclic GMP as well as cyclic AMP in isolated pancreatic tissue. However, both secretin and VIP failed to alter significantly the basal level of cyclic GMP in pancreatic fragments.

3) Atropine inhibited acetylcholine mediated amylase release, but did not affect the cholecystokinin-pancreozymin response. Furthermore, atropine pretreatment produced a marked inhibitory effect on the increase of tissue cyclic nucleotides induced by cholecystokinin-pancreozymin and acetylcholine.

In summary, these results suggest that whereas the pancreatic secretion produced by secretin and VIP is modulated by the formation of cyclic AMP, the pancreatic enzyme secretion in response to cholecystokinin-pancreozymin and acetylcholine is triggered by both cyclic AMP and cyclic GMP.

* 本論文의 要旨는 第二九回 大韓藥理學會에서 發表하였음.
本 연구는 延世醫大 教授研究費(1977年度)로 이루어졌음.

서 론

1956년 Rall 및 Sutherland 등²³⁾에 의하여 cyclic AMP (cAMP)가 발견되기 전까지는 hormone의 작용기전에 대하여 별로 알려진 바가 없었으나, 지난 10여년간 많은 연구자들에 의하여 cAMP는 norepinephrine을 포함한 수종의 hormone의 효과를 전달해 주는 "second messenger"의 역할을 함이 확실히 되고 있다. 취장 hormone인 secretin과 CCK-PZ의 취액분비기전에 cAMP의 관련여부는 Case 등⁴⁾에 의하여 처음으로 검색되었다. 즉 고양이의 취장에서 dibutyl cyclic AMP의 혈관내 주입으로 취액 및 electrolyte의 증가를 가져왔으나, 취효소에는 아무런 변동을 볼 수 없었으며 또한 secretin을 정맥주사 하였을 때는 주사후 30초 이내에 취장조직내 cAMP함량의 현저한 증가를 보여주는 반면 약 45초이후부터 취액분비반응이 나타났다고 보고하여 cAMP가 취액분비기전에 관여함을 시사하였다.

Robberecht 등⁵⁾, Benz 등⁶⁾, Deschodt-Lanckman 등⁷⁾은 secretin, CCK-PZ 및 VIP에 의하여 취장조직내 cAMP의 증가를 관찰하였고 또한 Rutten 등¹³⁾, Thompson 등¹⁴⁾, 그리고 Klaeveman 등¹⁵⁾은 secretin과 VIP에 의하여 취장조직내 adenylate cyclase의 활성도가 증가됨을 보고하였다.

Gardner 등¹⁶⁾은 순수 분리한 acinar 세포를 secretin이나 VIP와 함께 incubation 하였을 때 5분 이내에 acinar cell에 cAMP가 급격하게 상승한 후 15분간 유지하는 것을 관찰하였으며 Deschodt-Lanckman 등⁷⁾, Rutten 등¹³⁾은 cAMP를 불활성화 시키는 phosphodiesterase의 inhibitor인 theophylline의 존재하에는 취홀몬에 의한 cAMP의 증가가 potentiation되는 것을 관찰하여 cAMP가 취외분비작용기전에 mediator로 작용함을 확실히 하였다.

한편 Robberecht 등⁵⁾은 in vivo에서 CCK-PZ에 의하여 cAMP의 증가는 볼 수 없었으나 반면 cyclic GMP (cGMP)의 2배이상의 증가를 보고하여 취장의 enzyme 분비에 관여하는 CCK-PZ는 cAMP보다는 cGMP의 관여를 암시하였으며 Harvey¹⁷⁾, Albano 등¹⁸⁾도 guinea pig 취장절편에서 CCK-PZ, secretin 및 acetylcholine으로 인한 cAMP와 cGMP의 변동을 검색하여 본 결과 secretin에 의한 결과와는 반대로 CCK-PZ와 acetylcholine은 cAMP에는 아무 영향이 없었으나 5~30초 이내에 cGMP의 급격한 상승을 관찰하였다.

최근 Albano 등¹⁸⁾은 guinea pig의 취절편을 이용한

in vitro 실험에서 CCK-PZ 및 acetylcholine으로 취조직내 cGMP가 빠르게 일시적으로 상승되며 이와같은 cGMP의 상승은 취절편으로부터 유리되는 protease 분비보다 언제나 선행됨을 보고하였다. 그러나 CCK-PZ와 acetylcholine으로 인한 취조직 cAMP 함량에는 아무 변동을 관찰할 수 없었으며, 더 나아가 atropine 전처치로 acetylcholine으로 인한 취조직 cGMP의 상승 및 protease 분비항진효과를 억압할 수 있었으나 CCK-PZ로 인한 이들 효과는 atropine으로 억제되지 못함을 보고하였다. 이와는 반대로 secretin 전처치로 취조직 cAMP의 증가를 가져왔으나 cGMP에는 하등의 영향을 볼 수 없음을 보고하여 secretin은 cAMP를 mediator로, 취효소분비 hormone인 CCK-PZ는 cGMP의 매개로 작용한다고 주장하였다. 그러나 이에 대하여 아직도 많은 의문의 여지가 있으며 상반된 연구결과가 보고되고 있어 본 실험에서 일차적으로 이를 검색하였다.

실험재료 및 실험방법

A) 실험재료

실험동물로는 체중 350~600 g의 guinea pig를 사용하였으며 약물은 cholestokinin-pancreozymin (Karolinska), essentially pure cholestokinin-pancreozymin (NIH, U.S.A.), secretin (Karolinska), caerulein (Farmitalia, Italy), acetylcholine (Sigma Co.), essentially pure VIP (NIH, U.S.A.), cyclic AMP assay kit (Amersham Buckinghamshire, England), cyclic GMP radioimmunoassay kit (Amersham Buckinghamshire, England)이었다.

B) 실험방법

1) **적출취장의 amylase 분비 실험**: Guinea pig로부터 절취한 취장을 지방조직과 혈관을 완전히 제거한 후 100 mg 씩 엷은 절편을 만들었다. 이 절편은 각각 대조군과 실험군으로 나누어 10 mM의 glucose를 첨가한 2 ml의 Krebs-Ringer bicarbonate액에 넣어 95% O₂와 5% CO₂의 혼합 gas를 통해 주면서 취장조직과 medium의 모든 조건이 equilibrium이 되도록 20분간 preincubation시킨 다음 취장 hormone 및 약물등을 medium에 가한후 1, 2, 3, 5, 10, 20, 그리고 30분후 취조직을 dry ice로 즉시 동결시켜 취조직 cAMP 및 cGMP 측정에 이용하였으며 취조직을 제거한 medium으로부터 amylase의 활성도를 측정하였다²¹⁾.

2) **취조직 cAMP 및 cGMP 측정** : Dry ice 로 동결시킨 취조직편을 6 mM theophylline액 0.7 ml을 가한 후 끓는물에 10분간 가열하여 조직을 denature 시키고 2 ml의 산성화 시킨 알콜(1 ml의 N-HCl/100 ml alcohol)을 이용하여 homogenization 하였다. 이 homogenate를 -20°C에서 24시간 방치한 후 1,500 g에서 10분 원심분리하여 그 상등액을 취하고, 다시 1 ml의 산성 alcohol로 2회 침전물을 세척하여 그 상등액을 합하였다. 이 alcohol 침출액을 질소 gas 기류하에 50°C에서 증발시키고 그 잔여물에 1 ml의 50 mM Tris-HCl buffer (pH 7.4)을 가하여 현탁시켜 cAMP와 cGMP의 측정에 이용하였다.

Cyclic AMP는 binding protein 방법²⁵⁾으로, cyclic GMP는 radioimmunoassay 방법으로 The Radiochemical centre Amersham Buckinghamshire, England로부터 구입한 assay kit을 이용하여 측정하였다.

실험 성적

A) 적출취장의 amylase 분비에 대한 CCK-PZ, secretin, VIP 및 acetylcholine의 효과

Amylase 분비효과는 CCK-PZ가 제일 강하게 나타났는데 이 증가는 15분후 13 mg maltose로써 최고에 달하며 30분간 유지하였다. 반면 secretin이나 VIP는 2~3 mg maltose로써 매우 미미한 amylase 분비효과를 보여 주었으며 acetylcholine에 의한 효과는 CCK-PZ와 secretin의 중간 정도로 amylase 분비향진을 보여주었다(그림 1).

B) CCK-PZ, secretin, VIP, acetylcholine으로 인한 취조직 cyclic nucleotides의 변동

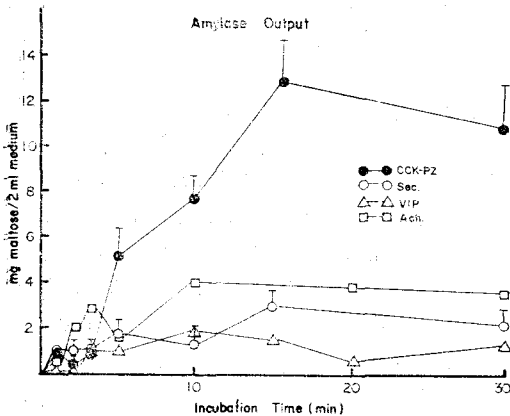


Fig. 1. Effect of CCK-PZ, secretin, VIP and acetylcholine on amylase secretion.

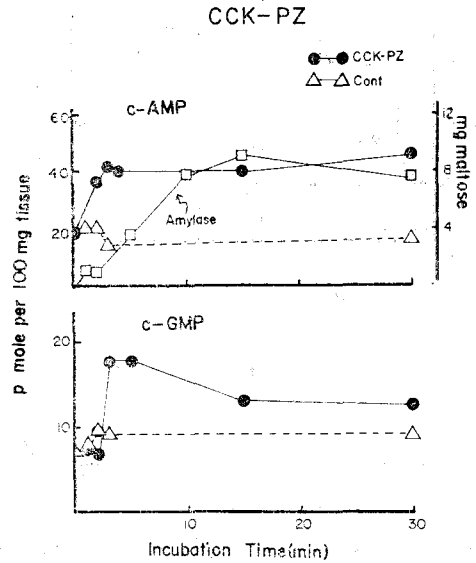


Fig. 2. Effect of 1 unit of CCK-PZ (Karoliuska) on cyclic nucleotides in guinea pig pancreatic fragment.

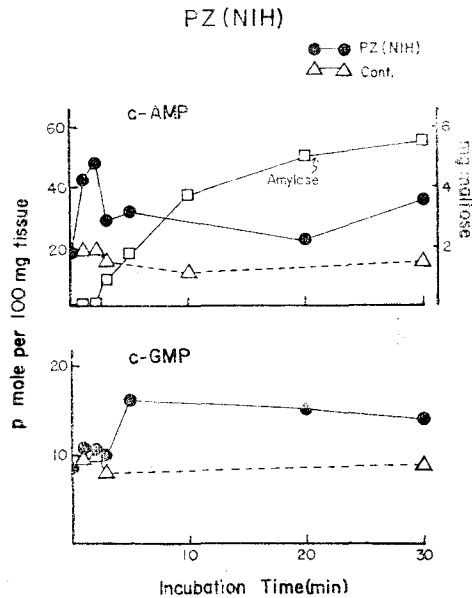


Fig. 3. Effect of 1 unit of CCK-PZ (NIH) on cyclic nucleotides in guinea pig pancreatic fragment.

a) CCK-PZ (Karolinska, NIH) : 취조직 cAMP는 1 unit의 CCK-PZ 처리로 1분후 급격한 상승을 보여 3분에 약 50 pmole/100 mg tissue로 최고에 달한 후 30

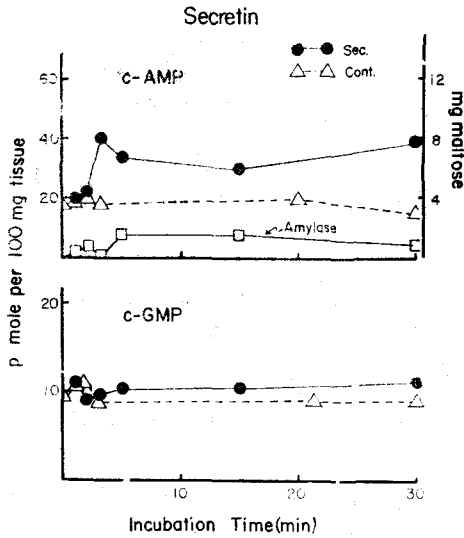


Fig. 4. Effect of secretin (1 unit) on cyclic nucleotides in guinea pig pancreatic fragment.

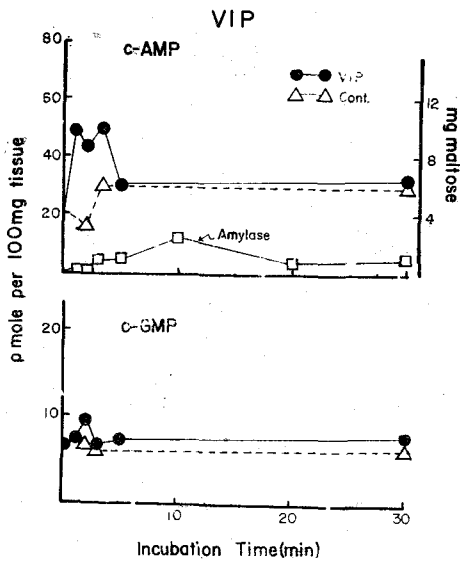


Fig. 5. Effect of VIP (1 μ g) on cyclic nucleotides in guinea pig pancreatic fragment.

분까지 별 변화가 없었다(그림 2). 한편 cGMP도 비슷한 경향으로 CCK-PZ 처치후 3분에 약 18 pmole 로써 최고에 달한 후 서서히 감소하여 취효소분비 hormone 인 CCK-PZ 로 취장 cAMP 와 cGMP 양자 모두의 변동을 가져왔다. 그러나 취효소분비는 5분후 서서히 증가하여 15분에 9 mg maltose 로써 amylase 의 분비는 취조직 cyclic nucleotide 의 변화에 비하여 늦게 나타났

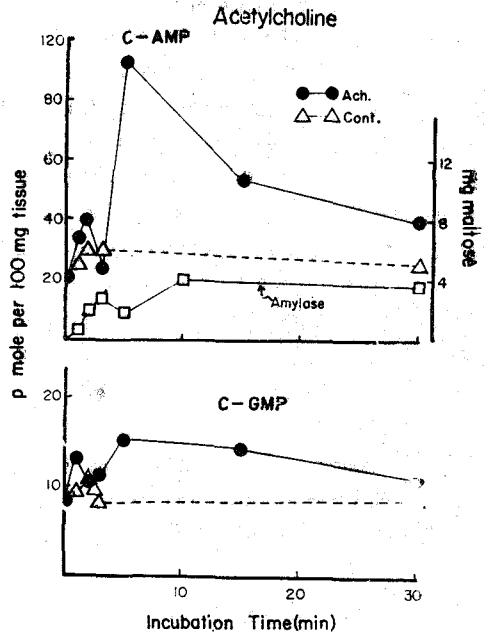


Fig. 6. Effect of acetylcholine ($10^{-5}M$) on cyclic nucleotides in guinea pig pancreatic fragment.

다.

NIH 로부터 입수한 essentially pure CCK-PZ 의 경우에도 CCK-PZ (Karolinska)와 비슷하여 5분이내에 cAMP 및 cGMP 모두 2배정도의 급격한 상승을 나타냈으며 amylase 분비는 5분후부터 서서히 증가하여 20분에 6 mg maltose 로 증가하였다(그림 3).

b) Secretin 과 VIP : 1 unit 취 secretin (Karolinska) 처치로 취조직 cAMP 의 변동은 처치후 3분에 약 40 pmole/100mg tissue 로 증가후 서서히 감소 하는듯 하였으나 30분간 별변동이 없었다. 한편 secretin 처치로 취조직 cGMP 에는 아무런 변동을 관찰할 수 없었다. (그림 4). 또한 VIP 처치군에서도 secretin 에서와 비슷하여 cAMP 의 2배이상 급격한 상승을 가져왔으나 cGMP 에는 아무런 영향을 관찰할 수 없었다(그림 5).

c) Acetylcholine : $10^{-5}M$ 농도의 acetylcholine 처치군에서는 처치후 5분에 약 100 pmole/100mg tissue 로써 약 5배정도의 급격한 취조직 cAMP 상승을 초래한 후 서서히 감소하였으며 cGMP 는 1.5배 정도로 cAMP 증가에 비하여 약간의 상승을 나타내어 cAMP 및 cGMP 양자의 증가를 가져왔다(그림 6).

d) CCK-PZ 및 acetylcholine 으로 인한 amylase 분비와 취조직 cyclic nucleotides 상승에 대한 atropine 의 영향 : $10^{-5}M$ 의 atropine 전처치로 acetylcholine (10^{-5}

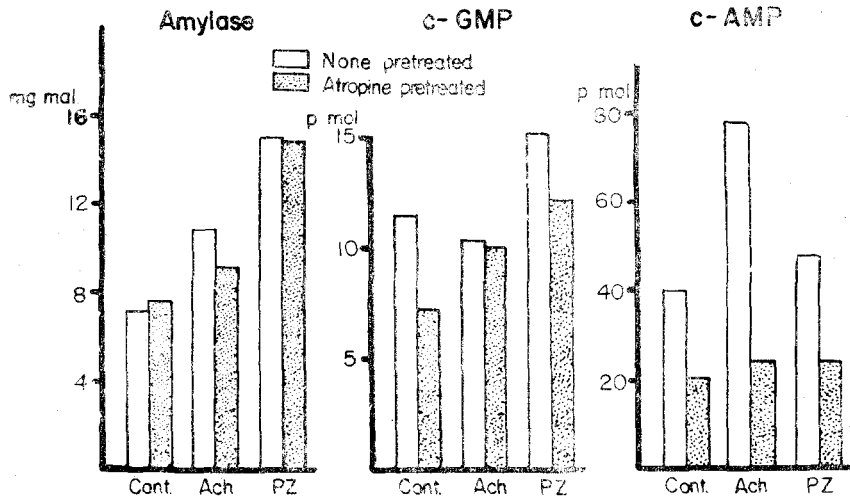


Fig. 7. The effect of atropine ($10^{-5}M$) on the response to cyclic nucleotides and amylase secretion induced by acetylcholine ($10^{-5} M$) and CCK-PZ (1 unit)

M)로 인한 amylase의 분비항진효과는 완전히 봉쇄되었으나 CCK-PZ로 인한 amylase 분비항진효과는 봉쇄되지 않았다. 또한 취절된 cyclic nucleotide 함량에 대한 atropine 효과는 cAMP의 경우에는 대조실험에서 atropine 전처치 자체효과로 현저한 감소를 가져왔으며 역시 acetylcholine이나 CCK-PZ 처치군에서도 현저한 저하를 가져왔다. 취조직 cGMP는 대조군과 CCK-PZ 처치군에서 약간의 감소를 보였으나 acetylcholine 처치군에서는 별 변동을 관찰할 수 없었다(그림 7).

고 찰

cAMP는 Sutherland 및 Robison 등¹⁸⁾에 의하여 수종 hormone들의 작용기전에 mediator로 작용함이 발견되었다. 즉 세포막에 존재하는 cAMP를 합성하는 효소인 adenylate cyclase라는 효소의 활성화로 세포내의 cAMP의 증가를 초래하며 이로 인하여 어떤 생리반응이 일어난다고 알려져 있다. Sutherland 등²⁴⁾은 어떤 hormone이 cAMP를 mediator로 그 작용이 나타낸다고 확정할 수 있는 몇가지 범주를 정하였는데 그 첫째는 hormone이나 그 analogues는 adenylate cyclase를 활성화 시켜야 하며 둘째로 adenylate cyclase의 활성화로 cAMP의 함량변동을 관찰할 수 있어야 하며 셋째로 hormone에 의한 adenylate cyclase 활성화 또는 phosphodiesterase의 억제물질인 theophylline으로 상승효과를 나타내야 한다. 마지막으로 in vitro에서 cAMP 첨가로 비슷한 hormone의 효과를 관찰할 수 있어야 한다고 제의하였다.

이러한 지침하에 많은 연구자들은 취장 hormone인 secretin이나 CCK-PZ의 취장호르몬 분비 작용기전에 cAMP의 관여를 검색하였는데 Kulka와 Stemlicht¹⁰⁾는 적출 mouse 취장에서 cAMP, dibutyl cyclic AMP 등이 pancreozymin이나 carbamylcholine과 유사하게 amylase의 분비항진효과를 나타냈다고 보고 하였으며, Ridderstap와 Bonting¹¹⁾, Knodell 등¹²⁾도 가토의 취장으로부터 유사한 실험결과를 얻었다고 보고하였다. Scratcherd 등²⁰⁾은 고양이의 적출취장내 cAMP, theophylline을 단독 혹은 양자의 혼합 주입으로 secretin과 유사한 취장내 electrolyte 농도의 항진을 관찰하여 secretin의 cAMP를 매개로 한 작용기전을 주장하였다.

한편 cAMP와는 달리, cGMP는 1969년 Goldberg 등⁸⁾에 의하여 처음으로 동물조직에 존재함이 확인된 후 guanylate cyclase에 의하여 GTP로부터 합성됨이 밝혀졌고 더 나아가 George 등¹⁹⁾은 acetylcholine에 의하여 심장수축의 억제와 동시에 심근내 cGMP의 축적됨을 보고하였다. Goldberg 등⁹⁾은 일반적으로 cAMP의 증가를 억압하는 물질들에 의하여는 cGMP의 상승을 초래함을 관찰하고 cAMP와 cGMP는 서로 길항적으로 작용하는 control system에 각각 관여한다는 가설을 발표하였다.

본 실험결과에서는 secretin 처치로 취 효소의 분비 효과는 미약하게 나타났으며 취조직 cyclic nucleotide의 변동은 cAMP 경우에는 대조군에 비하여 3분후에 약 2배이상의 증가를 보였으나 cGMP에는 아무런 변

등을 초래하지 못하였다. 이는 Albano 등¹⁾의 실험결과와 일치하는 것으로 취액량 및 electrolyte의 분비항진을 초래하는 secretin은 cGMP의 매개보다는 아마도 cAMP의 mediation으로 그 효과가 나타나는데 같다. 또한 화학적 구조상으로 secretin과 유사한 vasoactive intestinal polypeptide (VIP)는 정도는 약하지만 그 작용은 secretin과 비슷하여 취장에서 electrolyte와 취액량증가를 일으킴이 알려져 있으며 적출 취장은 물론 취 acinar cell에서 adenylate cyclase의 활성도를 증가시키는 Deschodt-Lanckman 등²⁾에 의하여 보고되었다. 본 실험에서는 secretin과 유사하게 VIP는 미약한 amylase의 분비효과를 나타냈으며 한편 cyclic nucleotides 함량에서도 secretin과 동일하게 cAMP의 급격한 상승을 나타냈으나 cGMP에는 별 변동을 초래하지 못하였다. 이 결과는 아마도 VIP와 secretin은 그 작용기전이 비슷하여 cAMP의 매개를 통하여 이루어지지 않나 짐작된다.

Robberecht 등³⁾은 취효소의 분비항진을 일으키는 hormone인 CCK-PZ에 의하여 in vivo에서 cAMP의 상승을 관찰할 수 없었으나 cGMP의 2배이상의 증가를 관찰하였으며 Albano 등²⁾도 guinea pig 취절편에서 secretin에 의하여는 cAMP의 증가를, CCK-PZ 및 acetylcholine에 의하여는 cGMP의 상승을 관찰하고, CCK-PZ나 acetylcholine은 cAMP보다는 cGMP에 의하여 취효소분비 항진효과를 일으킨다고 주장하였다. 본 실험결과에서는 CCK-PZ (Karolinska)와 NIH로부터 구입한 essentially pure PZ처치로 강한 amylase 분비를 관찰할 수 있었으며 특히 취조직 cyclic nucleotide 함량변동은 cAMP는 물론 cGMP도 5분 이내 급격한 상승을 나타내 Robberecht³⁾ 및 Albano 등²⁾의 보고와는 약간 상이한 결과이다. CCK-PZ로 인하여 cAMP는 물론 cGMP 모두의 함량증가를 초래한 것은 취효소분비 hormone인 CCK-PZ는 아마도 cAMP와 cGMP 양자의 매개를 받는 것으로 생각되나, 본 실험에 사용한 CCK-PZ는 synthetic hormone이 아니므로 미량의 secretin 혼재 가능성을 배제할 수 없으므로 불순물로 함유된 secretin에 의한 cAMP의 상승가능성을 생각할 수도 있다.

Acetylcholine 처치로 인한 amylase 분비효과는 CCK-PZ보다는 약하지만 secretin보다는 강한 분비항진을 보여 주었으며 특히 취조직 cyclic nucleotides 중 cAMP는 acetylcholine 처치후 5분 이내에 약 5배 정도의 높은 증가를 나타내 secretin, CCK-PZ보다 더 강한 cAMP 상승을 보여 주었다. 또한 취조직 cGMP의 증가도 초래하여 CCK-PZ와 유사하게 cyclic nucleotides 양자 모

두의 변동을 관찰할 수 있었다.

Albano 등²⁾은 적출 guinea pig 취장에서 acetylcholine 처치로 protease 및 cGMP의 현저한 증가를 관찰할 수 있었으며 atropine ($10^{-5}M$) 전처치로 protease의 증가는 물론 취조직 cGMP의 상승도 완전히 봉쇄되었다고 보고하였다. 본 실험에서는 atropine ($10^{-5}M$) 전처치로 적출취장으로부터의 acetylcholine으로 인한 amylase 분비는 약 30~50% 정도 억압되었으나 CCK-PZ에 의한 amylase 분비효과는 atropine 전처치로 봉쇄되지 못하였다. 한편 취조직 cAMP 함량은 atropine 전처치로 acetylcholine은 물론 CCK-PZ 처치군에서도 현저한 감소를 가져왔으며 대조군에서도 atropine 자체는 취조직 cAMP의 현저한 감소를 나타냈다. 고로, acetylcholine이나 CCK-PZ에 의한 cAMP의 증가가 atropine으로 봉쇄되는지는 atropine 자체의 효과때문에 관찰하기 어려웠다. 또한 cGMP의 경우에도 비슷한 양상을 보여 주었다.

결 론

취외분비에 미치는 cyclic nucleotide의 역할을 검색코저 해명의 취장 절편을 사용하여 CCK-PZ, secretin, VIP 및 acetylcholine으로 인한 amylase 분비와 cAMP 및 cGMP의 변동을 관찰하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 취 조직절편으로부터 amylase의 분비효과는 CCK-PZ가 제일 강하게 나타났으며 acetylcholine은 CCK-PZ에 비하여 약 50% 정도의 증가를 보였으나 secretin, VIP는 경미한 증가를 가져왔다.

2. 취조직내 cyclic nucleotides의 변동은 CCK-PZ와 PZ(NIH)를 처치한 군에서는 취조직 cAMP와 cGMP 모두 처치 후 1분 후부터 증가하여 3분에 약 2배 이상으로 증가한 후 30분까지 별 변동을 보이지 않거나 혹은 점차 감소하였다.

3. Secretin과 vasoactive intestinal polypeptide를 처치한 군에서의 취조직 cyclic nucleotide의 변동은 cAMP의 경우에는 CCK-PZ 처치군과 유사하게 3분에 대조군에 비하여 약 2배 이상의 증가를 보인 후 점차 경미한 감소를 보였다. 그러나 cGMP는 secretin 혹은 VIP 처치로 아무런 변동을 볼 수 없었다.

4. Acetylcholine 처치군에서는 처치후 5분에 약 5배 이상의 취조직 cAMP의 증가를 보여 제일 강한 반응을 나타냈으며 cGMP도 약 1.5배의 증가를 보였다.

5. Atropine 전처치로 acetylcholine에 의한 amylase 분비는 억제되었으나 CCK-PZ로 인한 반응은 억압되지 못하였다. 한편 취조직 cAMP 함량은 atropine 전처치

로 대조군, acetylcholine 및 CCK-PZ 처치군에서 공히 억제되었다.

이상의 실험결과로 미루어 secretin이나 VIP는 cAMP를, CCK-PZ 및 acetylcholine은 cAMP는 물론 cGMP를 매개로 그 작용이 나타난다고 추측된다.

REFERENCES

- 1) Albano, J., R.F. Harvey and K. D. Bhoola: *Studies on cholecystokinin and acetylcholine-mediated enzyme secretion and cyclic GMP in the pancreas. Digestion* 13:104, 1975.
- 2) Albano, J., K.D. Bhoola and R.F. Harvey: *Intracellular messenger role of cyclic GMP in exocrine pancreas. Nature* 262:404, 1976.
- 3) Case, R.M., T.J. Laundry and T. Scratcherd: *Adenosine 3', 5'-monophosphate (cyclic AMP) as the intracellular mediator of the action of secretin on the exocrine pancreas. J. Physiol* 204:45, 1969.
- 4) Case, R.M., A.A. Harper and T. Scratcherd: *Water and electrolyte secretion by the perfused pancreas of the cat. J. Physiol* 196:133, 1968.
- 5) Robberecht, P., M. Deschodt-Lanckman, P. De Neef and J. Christophe: *Hydrolysis of the cyclic 3', 5'-monophosphates of adenosine and guanosine by rat pancreas. Eur. J. Biochem.* 41: 585, 1974.
- 6) Benz, L., B. Eckstein, E.K. Matthews and J.A., Williams: *Control of pancreatic amylase release in vitro: effect of ions, cyclic AMP, and colchicine. Br. J. Pharmacol.* 46:66, 1972.
- 7) Deschodt-Lanckman, M., P. Robberecht, P. De Neef, F. Labrie and J. Christophe: *In vitro interactions of gastrointestinal hormones on cyclic adenosine 3', 5'-monophosphate levels and amylase output in the rat pancreas. Gastroenterology* 68:318, 1975.
- 8) Goldberg, N.D. S.B. Dietz and A.G. O'Toole: *Cyclic guanosine 3', 5'-monophosphate in mammalian tissues and urine. J. Biol. Chem.* 244 :4458, 1969.
- 9) Goldberg, N.D., M.K. Haddox, E. Dunham, C. Lopez and J.W. Hadden: *In: The Cold Spring Harbor Symposium on the Regulation of Proliferation in Animal Cells. ed. B. Clarkson, R. Baserga p.609 Cold Spring Harbor, N.Y.: Cold Spring Harbor Lab.*
- 10) Kulka, R.G. and E. Stemlicht: *Enzyme secretion in mouse pancreas mediated by adenosine-3', 5'-cyclic phosphate and inhibited by adenosine -3', 5'-phosphate. Proc. Natl. Acad. Sci.,* 61: 1123, 1968.
- 11) Ridderstap, A.S. and S.L. Bonting: *Cyclic AMP and enzyme secretion by the isolated rabbit pancreas. Pflügers Arch.* 313:62, 1969.
- 12) Knodell, R.G., P.P. Toskes, H.A. Reber and F.P. Brooks: *Significance of cyclic AMP in the regulation of exocrine pancreatic secretion. Experimentia* 26:515, 1970.
- 13) Rutten, W.J., J.J.H.H.M. De Port and S.L. Bonting: *Adenylate cyclase in the rat pancreas. Properties and stimulation by hormones. Biochem. Biophys. Acta.,* 274:201, 1972.
- 14) Thompson, W.J., R.H. Williams and S.A. Little: *Activation of guanyl cyclase and adenylyl cyclase by secretin. Biochem. Biophys. Acta.,* 302:329, 1973.
- 15) Klaveman, H.L., T.P. Conlon and J.D. Gardner: *Effects of gastrointestinal hormones on adenylate cyclase activity in pancreatic exocrine cells. In: Gastrointestinal Hormones. Edited by J.C. Thompson. Austin, University of Texas Press p.321, 1975.*
- 16) Gardner, J.D., T.P. Conlon and T.D. Adams: *Cyclic AMP in pancreatic acinar cells: Effects of gastrointestinal hormones. Gastroenterology* 70:29, 1976.
- 17) Harvey, R.F., J. Albano, K.D. Bhoola and A.E. Read: *Effects of cholecystokinin, secretin and acetylcholine on pancreatic enzyme secretion and tissue levels of cyclic GMP and cyclic AMP. Gut.,* 16:837, 1975.
- 18) Sutherland, E.W. and G.A. Robison: *The role of cyclic 3', 5'-AMP in responses to catecholamines and other hormones. Pharmacol. Rev.,* 18:145, 1966.

- 19) George, W.J., J.B. Polson, A.G. O'Toole and N.D. Goldberg: *Elevation of guanosine 3', 5'-cyclic phosphate in rat heart after perfusion with acetylcholine. Proc. Natl. Acad. Sci.*, 66: 398, 1970.
- 20) Scratcherd, T. and R. M. Case: *In; Nobel Symposium XVI. edited by S. Andersson. Upsala: Almqvist and Wikell 1972*
- 21) Sumner, J.B.: *The estimation of sugar in diabetic urine, using dinitrosalicylate. J. Biol. Chem.*, 62:287, 1924.
- 22) Case, R.M., A.A. Harper and T. Scratcherd: *The secretion of electrolytes and enzymes by the pancreas of the anaesthetized cat. J. Physiol.* 201:335, 1969.
- 23) Rall, T.W., E.W. Sutherland and J. Berthet: *The relationship of epinephrine and glucagon to liver phosphorylase. IV. Effect of epinephrine and glucagon on the reactivation of phosphorylase in liver homogenates. J. Biol. Chem.*, 224:463, 1957.
- 24) Sutherland, E.W., G. A. Robison, and R. W. Butcher: *Some aspects of the biological role of adenosine 3', 5'-monophosphate (cyclic AMP). Circulation* 37:279, 1968.