백서 타액선의 스트레스 유도 Cytochrome P450 IIE1(CYPIIE1)에 관한 면역학적 연구

경희대학교 치과대학 구강내과학 교실

이 진 표 · 홍 정 표

목 차

Ⅰ. 서 론
Ⅱ. 실험재료 및 방법
Ⅲ. 실험성적
Ⅳ. 총괄 및 고안
Ⅴ. 결 론
참고문헌
영문초록
사진부도

Ⅰ. 서 론

건강한 구강상태를 유지하기 위해서는 타액(saliva)이 매우 중요한 역할을 한다[1]. 타액은 점막을 보호하고 윤활작용을 하며 항균작용, 혈액응고작용, 완충작용 그리고 치아의 성숙에도 관여하고 기타 소화작용과 수분대사의 조절, 배설작용, 용매작용 등을 한다[2].

타액 분비는 전적으로 신경활동에 의해 조절되며 호르몬은 영향을 줄 수 있으나 타액 분비를 일으키지는 않는다. 타액선의 분비활동은 주로 부교감신경과 교감신경에 의해 조절되는데, 타액선에 분포하는 부교감신경으로는 설인신경과 안면신경이 있다.

일반적으로 분비세포는 부교감신경과 교감신경의 지배를 받고 있으나 부교감신경과 교감신경 자극에 대한 타액선의 반응은 다양하며 타액의 분비율과 성분등이 상당한 차이를 보인다. 타액분비의 첫 단계는 신경 흥분이 선세포에 전달되며, 전기적으로 세포가 과분극상태로 되고 선포에서 타액이 형성된 다음, 도관계의 작용으로 성분 등의 변화가 일어나서 최종적으로 타액형성이 이루어져 분비된다.

타액자체가 생성되지 않거나 타액의 분비기전에 이상이 생겼을 경우 타액선 질환이 발생하게 된다. 이에 대한 대표적인 증상으로 타액선의 가역적 또는 비가역적 기능 장애 징후인 구강건조증(Xerostomia, Dry mouth)[3]을 들수 있는데 이것은 임상적으로 매우 중요한 의미를 지니고 있다.

타액선 기능이상을 일으키는 요소에는 타액선 도관의 물리적 폐쇄, 타액선 실질의 파괴, 그리고 분비기전의 약리학적 변화 등이 있다.

도관의 폐쇄는 종종 타액선 도관을 완전히 폐쇄할 수 있지만 선포의 분비는 막지 않는다. 이러한 결과는 도관내 내압을 증가시켜 선포 세포의 위축을 일으키고 타액선 기능의 상실을 초래할 수 있다. 타액선 도관의 폐쇄를 일으키는 일차적인 요소로는 타석의 형성과 외상을 들 수 있다. 이러한 상태는 폐쇄를 일으키는 조건을 제거하고 타액선 도관을 다시 회복시켜 줌으로써 치료될 수 있다.

폐쇄성 기능 장애는 낭포성 섬유증과 같은 전

신질환의 징후일 수도 있고 종양에 의한 타액선 도관의 침범에 의해서 발생될 수도 있다. 낭포성 섬유증은 점도가 높은 점액소의 분비에 의해 점액소 덩어리(mucin plug)가 형성되어 타액선 도관을 폐쇄하는 유전질환이다. 타액선 종양 혹은 비타액선 두경부 종양 또한 타액선 도관을 압박하거나 침범할 수 있다. 이 경우 일차적 원인이 되는 질환의 치료가 타액선 기능 이상을 해결할 수 있다.

타액선 실질의 파괴가 자가면역질환, 방사선 치료, 혹은 감염의 결과로 인해 일어날 수 있다. 자가면역 질환에 의한 타액선 침범은 원발성 혹은 속발성 형태의 건조 증후군과 관련이 있을 수 있다. 원발성 형태의 건조 증후군의 특징은 누선과 타액의 침범을 일으키는데, 보통 구강건조증과 안구건조증을 동반한다. 속발성 형태는 전신성 홍반성 낭창, 공피증, 만성 간담낭 질환, Raynaud 현상과 같은 최소한 하나의 결합 조직 질환을 동반한다. 두가지 형태 모두 국소적인 염증성 침윤을 일으켜 타액선의 종창을 야기시키고 타액선 실질의 점진적인 파괴를 일으킨다.

대부분의 건조증후군 환자는 부분적으로 타액선 기능을 가지고 있지만 종종 타액선의 점진적인 파괴가 지속되어 타액선 기능의 완전한 상실이 일어나기도 한다. 건조증후군 환자에서와 유사한 조직학적 소견을 보이는 면역관련 타액선 기능 이상이 백혈병 같은 질환으로 인해 골수 이식을 받는 환자에서 보고된 바 있다. 이러한 환자에서는 모든 면역 담당 세포를 방사선 조사로 파괴시킨후 정상 골수이식의 형태로 새로운 면역세포를 받는다. 일부분의 환자는 이식된 면역세포가 숙주를 이물질로 인식하고 타액선에 대해 면역반응을 일으킬 수 있다. 이러한 반응은 구강건조증을 일으킬 수 있으며 소타액선의 sIgA의 분비 감소를 일으킬 수 있다.

모든 타액선은 두경부 종양의 치료에 쓰이는 용량의 방사선에 손상을 받을 수 있으며 손상 정도는 타액선마다 다르다. 방사선 조사 직후, 이하선 기능의 5% 이하만이 존재하며 악하선과 설하선은 방사선 조사에 저항이 크므로 약 25% 정도 기능을 보유하고 있다. 그러나 3년후 5% 이하로 떨어진다.

타액선 감염증은 일차적 전신적 감염증, 그예로 유행성 이하선염(mumps) 혹은 다른 타액선 기능 이상으로 인한 이차적인 국소적 역행성(retrograde) 감염증의 결과로 인해 일어날 수 있다. 유행성 이하선염은 mumps 바이러스를 포함하고 있는 타액과 직접 혹은 간접적 접촉을 통하여 전염되는 바이러스 감염이다. 이 바이러스의 일차적 표적은 이하선 이지만 성선(gonads), 췌장, 중추신경계, 심장도 감염될 수 있다. 이 경우 이하선 종창과 타액선 실질의 국소적 괴사가 특징적이다. 이 질환도 3~7일간 지속되는 자기한정적 질환이며 영구적인 타액선 기능 이상을 일으키지는 않는다.

국소적인 역행성 감염은 타액선 분비율 감소의 이차적 결과이다. 타액선 도관을 통한 타액의 흐름은 타액선으로의 구강내 세균의 이동을 막는 자연적인 방어막이다. 타액선 분비가 감소될 동안 세균은 타액선 도관을 타고 올라와 타액선 실질에 급성 혹은 만성 화농성 감염을 일으킨다. 이러한 형태의 감염은 타액선 분비율 감소를 일으키는 상태와 같이 일어날 수 있고 주로 유아에서의 탈수시 혹은 노년층이나 쇠약한 환자에서 주로 일어난다.

많은 약물들이 자율신경절 혹은 신경절후 시냅스 부위의 신경 임펄스에 영향을 미침으로써 중추신경계 기능을 변화시켜 자율신경계에 영향을 미치는 것으로 알려져 있다. 신경절후 부위에서 교감신경 작용성(sympathomimetic) 혹은 부교감신경 작용성(parasymathomimetic) 약물은 일반적으로 분비물의 이동을 촉진하거나 선포의 분비를 촉진시킴으로써 타액의 분비를 촉진시키는 반면 교감신경 차단성(sympatholytic) 혹은 부교감신경 차단성(parasympatholytic) 약물은 타액분비를 감소시킨다. 또한 파킨슨 질환시의 신전, 다양한 정신장애, 고혈압과 같은 심각한 상태를 치료하는 약물은 타액의 분비를 감소시키거나 타액 성분을 변화시킬 수 있다.

구강건조증은 국소적 염증이나 주타액선의 감염, 섬유종, 탈수 그리고 신경안정제, 항히스타민 및 항콜린제 등의 약물복용, Mikulicz씨 질환과

Sjögren 증후군같은 자가면역질환, 화학요법, 방사선 조사, 심인성 요인 등에 의해서 발생된다[4].

이중에서도 심인성 요인의 하나인 스트레스는 여러 논문에서 언급되고 있는데[5-8], Kleinhauz 등[9]의 최근 연구에 의하면 45명의 이스라엘 환자를 SCL-90R(self check list-90 revisions) 설문지와 RLC(recent life changes) 설문지로 조사한 결과 모든 항목에서 수치가 높게 나타난 환자에서 구강건조증이 나타났다고 보고된 바 있다.

외부로 부터의 모든 요구에 대한 생체의 비특이적 반응으로 정의되는 스트레스는 생체에 작용하여 놀람기(alarm), 저항기(resistance) 및 탈진기(exhaustion)를 거치게 되며[10], 생리적으로 자율신경계, 홀몬 또는 내분비계 및 면역계 등에 영향을 미치게 된다[11]. 따라서 스트레스는 면역을 약화시키기도 하고[12-14], 구강내의 다양한 병소를 유발시키기도 한다[15].

동물과 식물 조직에 존재하며 전자전달에 관여하는 철단백질인 Cytochrome은[16] 주로 소포체에서는 히드록시화 반응에 관여한다. 특히 간장 미소체의 20%를 차지하는 Cytochrome P450은 지방산, prostglandin 및 steroid와 같은 내인성 물질의 대사에 관여할 뿐만 아니라, 약물이나 발암물질, 및 주변의 화합물질과 같은 다양한 외부 물질에 대한 일차 대사과정에도 관여하는 산화제이다[17].

Cytochrome P450 IIE는 1982년에 Koop등[18]에 의해 순수 분리되었고 기질의 특이성과 유도 대사과정에 대해서도 이미 밝혀진 바있는데[19] 이중 Cytochrome P450은 내인성 화합물과 aceton, ether, CCl_4, benzen, pyrazole 및 pyridine과 같은 외인성 화합물[20-24], 그리고 nitrosamine과 같은 수용성 발암물질의 대사과정에 중요한 역할을 하며[25-27] , 특히 알콜 섭취시에는 암 발생을 높이고[28], 간독성을 증가시키는 것[29]으로 알려져 있어, 질병의 원인이나 진행과정을 추적하는데 중요한 인식자로 사용되어지고 있다[30].

또한 1995년 홍과 전[31]의 연구에 의하면 알콜 투여시에서 뿐만 아니라 스트레스 단독 부여시에도 해명(guinea pig)의 간 조직에서 Cytochrome P450 IA1(CYPIA1), Cytochrome P450 IA2(CYPIA2), 및 Cytochrome P450 IIB1 (CYPIIB1)등이 실험 3주 후에 뚜렷이 발현되었다고 보고된 바 있다.

이에 저자는 선학들의 연구에 기초하여 구강조직에 다양한 병소를 나타나게하는 알콜과 스트레스를 부여하여 이들이 타액선 실질의 변화와 상호관련성이 있는지의 여부를 관찰하기 위하여, 알콜대사시 유도되며, 발암전구물질을 활성화시키는 것으로 알려진 Cytochrome P450 IIE1(CYPIIE1)이 백서의 타액선 조직에서 발현되는지의 여부와 그 발현 상황을 구명하고자 면역학적으로 비교 관찰한 결과 다소의 지견을 얻었기에 이를 보고하는 바이다.

II. 실험재료 및 방법

1. 실험재료

실험동물로는 생후 6주된 웅성 백서 16마리를 사용하였으며, 대조군, 알콜 투여군, 스트레스 부여군 그리고 알콜-스트레스 병용군으로 각각 4마리씩 배정하여 실험하였다. 알콜 투여군에는 물대신 알콜 15%(v/v)을 실험 전기간에 걸쳐 음료시켰으며, 스트레스 부여군은 역시 실험 전기간 동안 3~5℃냉수에 일일 2회 30초간 잠수시켜 한냉 스트레스를 부여하였다.

sample buffer는 0.25M Tris buffer, SDS, Glycerol을 이차 증류수에 혼합하여 만든 후 적당한 색을 얻기위해 bromophenol blue powder를 첨가하였다. SDS-PAGE 시에 사용된 SDS-PAGE Gel은 Resolving gel buffer, TEMED, DDW, ammonium persulfate, Bis-acrylamide 30%를 혼합한 Resolving gel과 stacking gel buffer, TEMED, DDW, ammonium persulfate, Bis-acrylamide 30%를 혼합한 Stacking gel로 구성되며, Lammeli (electrophoresis) buffer는 0.025M Tris, 0.192M glycine, 0.1% SDS를 DDW에 혼합하여 만들었다. Semi-Dry Blotting을 위한 transfer sandwich에는 0.3M Tris와 20% methanol을 혼합한 anode buffer no.1, 25mM Tris와 20% methanol을 혼합한 anode

buffer no.2, 25mM Tris, 40mM 6-Aminohexanoic acid와 20% methanol을 혼합한 cathode buffer 등이 사용되었다. 수세 시에는 Tris, Tween 20과 NaN_3를 DDW에 혼합한 Tris-Tween 20 washing Buffer system (TTBS)을 사용하였다. 그밖에 0.1% coomassie blue R-250, methanol(absolue), DDW, glacial acetic acid를 혼합한 염색액, 5% methanol, 7% acetic acid를 혼합한 탈색액(destaining solution) 등이 사용되었다.

2. 실험방법

실험동물은 각군 공히 4마리씩 실험후 1주에 희생시켜 간 조직, 악하선 조직 그리고 이하선 조직을 적출하였으며, 적출된 조직은 즉시 -70℃에 냉동보관후 경희대학교 치과대학 구강내과 실험실에서 다음과같이 면역전기영동법을 실시하였다.

적출된 조직들은 상온에서 해동후 10mM Tris buffer와 EDTA 15mM을 첨가해서 균일화(Homogenizing)하여 5분간 원심분리(Centrifugation)시킨 후, sample Buffer 첨가와 DW에서의 중탕 과정을 통해 단백질을 변성시켜 다시 잠깐 동안 원심분리하였다. 위와같이 준비된 조직을 Standard protein marker와 함께 vertical gel electrophoresis system을 사용하여 SDS-PAGE (Sodium Dodecyl Sulfate-Polyacrylamide Gel Electrophoresis)를 실시한 후 SDS-PAGE gel을 이차 증류수로 수세하고, Semi-Dry Blotting system을 이용해 SDS-PAGE gel에서 nitrocellulose membrane으로 protein을 electrotransfer 시켰다. 그 후 nitrocellulose membrane을 1% BSA-TBS blocking buffer에 실온에서 1시간 정도 부란시켜 blocking하고, 일차 항체를 첨가하여 실온에서 3시간 부란시킨 후 Tris-Tween 20 washing Buffer로 각 5분씩 3차례 수세하였다. 그 후 다시 nitrocellulose membrane을 HRP와 결합된 이차 항체(second antibody conjugated with HRP)가 1 : 500 또는 1 : 1000으로 희석된 1% BSA-TBS 용액에서 1시간이상 부란시킨 후 Tris-Tween 20 washing Buffer로 각 10분씩 7차례 수세하고, 결합된 항체를 가시화하기위해 HRP color development reagent, methanol, H_2O_2, Tris Buffer를 혼합한 substrate를 첨가한 후 마지막으로 nitrocellulose membrane을 DW에 담궈 반응을 중지시키고 target protein을 관찰하였다.

3. 실험시약 및 기구

본 실험을 위해서 다음과 같은 시약과 기구를 사용하였다. Sodium Dodecyl Sulfate, Tris, HCl, beta-mercaptoethanol, Bromophenol blue, Bis-Acrylamide, Glycine, TEMED, Ammmonium persulfate, Coomassie blue R-250, Methanol, Glacial acetic acid, 6-Aminohexanoic acid, NaCl, Bovin Serum Albumin, Tween-20, NaN_3, HRP color development reagent, H_2O_2, Agarose, Standard protein marker(pre-stained, 12-95 kDa range), Glycerol, pH meter, homogenizer, centrifuge, vertical gel electrophoresis system, Semi-Dry Blotting system, electrophoresis power supply, Nitrocellulose membrane, Filter paper, Hamilton syringe, Eppendorf tube, Micropipet tip, Pasteur pipet, Eppendorf tube rack, Stirring bar, Disposable pipet 등을 사용하였다. sample buffer는 0.25M Tris buffer, SDS, Glycerol을 이차 증류수에 혼합하여 만든 후 적당한 색을 얻기위해 bromophenol blue powder를 첨가하였다. SDS-PAGE 시에 사용된 SDS-PAGE Gel은 Resolving gel buffer, TEMED, DDW, ammonium persulfate, Bis-acrylamide 30%를 혼합한 Resolving gel과 stacking gel buffer, TEMED, DDW, ammonium persulfate, Bis-acrylamide 30%를 혼합한 Stacking gel로 구성되며, Lammeli (electrophoresis) buffer는 0.025M Tris, 0.192M glycine, 0.1% SDS를 DDW에 혼합하여 만들었다. Semi-Dry Blotting을 위한 transfer sandwich에는 0.3M Tris와 20% methanol을 혼합한 anode buffer no.1, 25mM Tris와 20% methanol을 혼

합한 anode buffer no.2, 25mM Tris, 40mM 6-Aminohexanoic acid와 20% methanol을 혼합한 cathode buffer 등이 사용되었다. 수세 시에는 Tris, Tween 20과 NaN_3를 DDW에 혼합한 Tris-Tween 20 washing Buffer system (TTBS)을 사용하였다. 그밖에 0.1% coomassie blue R-250, methanol(absolue), DDW, glacial acetic acid를 혼합한 염색액, 5% methanol, 7% acetic acid를 혼합한 탈색액(destaining solution) 등이 사용되었다.

Ⅲ. 실험성적

생후 6주된 웅성 백서 16마리를 사용하여 대조군, 알콜 투여군, 스트레스 부여군 그리고 알콜-스트레스 병용군으로 각각 4마리씩 배정하여 실험하였다. 알콜 투여군에는 물대신 알콜 15%(v/v)을 실험 전기간에 걸쳐 음료시켰으며, 스트레스 부여군은 역시 실험 전기간 동안 3~5°C 냉수에 일일 2회 30초간 잠수시켜 한냉 스트레스를 부여하였다.

또한 실험동물은 각군 공히 4마리씩 실험후 1주에 희생시켜 간 조직, 악하선 조직 그리고 이하선 조직을 적출하였으며, 적출된 조직은 즉시 -70℃에 냉동보관후 경희대학교 치과대학 구강내과 실험실에서 다음과 같이 면역전기영동법을 실시하였다.

적출된 조직들은 상온에서 해동후 10mM Tris buffer와 EDTA 15mM을 첨가해서 균일화(Homogenizing)하여 5분간 원심분리(Centrifugation)시킨 후, sample Buffer 첨가와 DW에서의 중탕 과정을 통해 단백질을 변성시켜 다시 잠깐동안 원심분리하였다. 위와같이 준비된 조직을 Standard protein marker와 함께 vertical gel electrophoresis system을 사용하여 SDS-PAGE(Sodium Dodecyl Sulfate-Polyacrylamide Gel Electrophoresis)를 실시한 후 SDS-PAGE gel을 이차 증류수로 수세하고, Semi-Dry Blotting system을 이용해 SDS-PAGE gel에서 nitrocellulose membrane으로 protein을 electrotransfer시켰다. 그 후 nitrocellulose membrane을 1% BSA-TBS blocking buffer에 실온에서 1시간 정도 부란시켜 blocking하고, 일차 항체를 첨가하여 실온에서 3시간 부란시킨 후 Tris-Tween 20 washing Buffer로 각 5분씩 3차례 수세하였다. 그 후 다시 nitrocellulose membrane을 HRP와 결합된 이차 항체(second antibody conjugated with HRP)가 1 : 500 또는 1 : 1000으로 희석된 1% BSA-TBS 용액에서 1시간 이상 부란시킨 후 Tris-Tween 20 washing Buffer로 각 10분씩 7차례 수세하고, 결합된 항체를 가시화하기위해 HRP color development reagent, methanol, H_2O_2, Tris Buffer를 혼합한 substrate를 첨가한 후 마지막으로 nitrocellulose membrane을 DW에 담궈 반응을 중지시키고 target protein으로 실험성적을 관찰하였다.

또한 본 실험에서 사용된 시약과 기구로는 Sodium Dodecyl Sulfate, Tris, HCl, beta-mercaptoethanol, Bromophenol blue, Bis-Acrylamide, Glycine, TEMED, Ammmonium persulfate, Coomassie blue R-250, Methanol, Glacial acetic acid, 6-Aminohexanoic acid, NaCl, Bovin Serum Albumin, Tween-20, NaN_3, HRP color development reagent, H_2O_2, Agarose, Standard protein marker(pre-stained, 12-95 kDa range), Glycerol, pH meter, homogenizer, centrifuge, vertical gel electrophoresis system, Semi-Dry Blotting system, electrophoresis power supply, Nitrocellulose membrane, Filter paper, Hamilton syringe, Eppendorf tube, Micropipet tip, Pasteur pipet, Eppendorf tube rack, Stirring bar, Disposable pipet 등을 사용하여 다음과 같은 실험성적을 얻었다.

간 조직에 대한 면역전기영동에서 실험 1주후에 알콜 투여군, 스트레스 부여군 및 알콜-스트레스 병용군에서는 대조군에 비해 각각 Cytochrome P450 IIE1(CYPIIE1)이 다량 관찰되었다. 악하선 조직과 이하선 조직에서는 Cytochrome P450 IIE1(CYPIIE1)이 매우 미약하게 관찰되었으며 악하선에서 보다는 이하선에서 더 우세하게 관찰되었다.

Ⅳ. 총괄 및 고안

타액(saliva)은 구강상태를 건강하게 유지시키는데 매우 중요한 역할을 한다[1]. 또한 점막을 보호하고 윤활작용을 하며 항균작용, 혈액 응고작용, 완충작용 그리고 치아의 성숙에도 관여하며, 기타 소화작용과 수분대사의 조절, 배설작용 그리고 용매작용 등을 한다[2].

구강내 타액은 3대 타액선에서 분비된 타액과 구강점막, 입술, 경구개와 연구개, 혀 등에 분포된 소타액선에서 분비된 타액과 잇몸에서 나온 수분등이 합쳐서 이룩된 혼합타액으로서, 하루에 분비되는 총량은 약 1~1.5리터라고 하나, 이러한 분비량의 계산 근거는 명확치 않다.

깨어있는 상태에서 특별한 자극이 없어도 타액분비가 일어나는데, 이때 분비되는 타액을 안정타액(resting saliva)이라 하고 악하선 타액이 약 70%, 이하선 타액이 20%, 소타액선에서 분비되는 양이 6%정도 되고 설하선의 분비량이 최소로 악하선의 분비량이 이하선보다 3배정도 많다.

구강내에 가해지는 화학적, 기계적 자극과 저작활동에 의해 분비가 현저하게 증가한다. 타액분비를 일으키는 자극이 직접 구강내에 작용하지 않더라도 타액 분비를 촉진시키는 자극물을 보거나 생각하면 타액 분비가 증하는데, 이러한 조건반사로는 냄새, 음식에 대한 생각, 음식 만드는 소리 등이 있으며 이때의 타액 분비를 psychic flow라고 한다. 타액선 분비기전에 이상이 생기거나 타액선 질환이 발생될 경우 부적절하게 분비되어 구강상태를 불안정하게 한다.

타액 분비는 전적으로 신경활동에 의해 조절되며 호르몬은 영향을 줄 수 있으나 타액 분비를 일으키지는 않는다. 타액선의 분비활동은 주로 부교감신경과 교감신경에 의해 조절되는데, 타액선에 분포하는 부교감신경으로는 설인신경과 안면신경이 있다.

설인신경은 이신경절에서 시냅스를 형성한 후 절후신경섬유가 이개 측두신경을 통해 이하선에 분포하고, 안면신경은 고삭신경을 통해 설신경에 도달한 후 악하선과 설하선 근처에 있는 신경절에서 시냅스를 형성한 다음 짧은 절후신경섬유가 타액선을 지배한다.

부교감신경의 신경절과 말단에서의 홍분전달물질은 acetylcholine이며 절후신경섬유의 홍분파는 atrophine에 의해 차단된다. 교감신경은 상경추 교감신경절에서 시냅스를 이룬후 절후섬유가 타액선에 분포되며, 신경절에서의 홍분 전달물질은 acetylcholine이나 교감신경의 말단에서는 norepinephrine이 홍분 전달물질로 작용한다.

일반적으로 분비세포는 부교감신경과 교감신경의 지배를 받고 있으나 부교감신경과 교감신경 자극에 대한 타액선의 반응은 다양하며 타액의 분비율과 성분등이 상당한 차이를 보인다. 타액분비의 첫 단계는 신경 홍분이 선세포에 전달되며, 전기적으로 세포가 과분극상태로 되고 선포에서 타액이 형성된 다음, 도관계의 작용으로 성분 등의 변화가 일어나서 최종적으로 타액형성이 이루어져 분비된다.

부교감신경은 타액선의 혈관을 확장시키며 교감신경은 혈관축소를 일으키는데, 고삭신경을 자극하면 악하선의 현저한 혈관확장이 일어나며, 이것은 atrophine에 의해 소실되지 않는다. 타액선 도관에 대한 자율신경의 작용은 확실한 증거는 없지만 도관세포의 안쪽이나 부근에 cholinesterase활성이 있는 사실로 보아 최소한 부교감신경의 영향을 받는 것으로 생각되며, 신경자극으로 근상피세포가 수축하여 선포내에 형성되어 있는 타액을 배출시키며, bradykinin과 kallilrein도 근상피세포를 수축시키는 효과를 가진다.

타액의 분비는 망상체 속에 있으며, 안면신경핵(facial nucleus)과 의핵(nucleus ambigus) 사이에 있는 타액핵(nucleus salivatorius)에서 기시되는 부교감신경 절전신경에서 시작된다[32]. 타액분비 신경들은 다른 뇌조직으로부터 억제되거나 홍분되는데, 타액분비가 수면중이나, 분노, 홍분상태, 또는 연령증가에 따라 감소되는 것으로 보아 타액분비의 억제는 고위 중추로 부터 일어나는 것임을 알 수 있다[33].

구강건조증(Xerostomia, Dry mouth)은 질환은 아니지만 타액선의 가역적 또는 비가역적 기능 장애를 말하는데[3] 이것은 임상적으로 매우 중요한 의미를 지니고 있다. 구강건조증은 구강

내의 국소적 염증, 타액선의 감염 및 섬유종, 탈수 또는 신경안정제, 항히스타민 및 항콜린제등의 약물, Mikulicz씨 질환과 Sjögren 증후군과 같은 자가면역질환, 화학요법제, 방사선 조사, 심인성 요인등에 의해서 발생된다[4].

타액선 기능이상을 일으키는 요소에는 타액선 도관의 물리적 폐쇄, 타액선 실질의 파괴, 그리고 분비기전의 약리학적 변화 등이 있다.

도관의 폐쇄는 종종 타액선 도관을 완전히 폐쇄할 수 있지만 선포의 분비는 막지 않는다. 이러한 결과는 도관내 내압을 증가시켜 선포 세포의 위축을 일으키고 타액선 기능의 상실을 초래할 수 있다. 타액선 도관의 폐쇄를 일으키는 일차적인 요소로는 타석의 형성과 외상을 들 수 있다. 이러한 상태는 폐쇄를 일으키는 조건을 제거하고 타액선 도관을 다시 회복시켜 줌으로써 치료될 수 있다.

폐쇄성 기능 장애는 낭포성 섬유증과 같은 전신질환의 징후일 수도 있고 종양에 의한 타액선 도관의 침범에 의해서 발생될 수도 있다. 낭포성 섬유증은 점도가 높은 점액소의 분비에 의해 점액소 덩어리(mucin plug)가 형성되어 타액선 도관을 폐쇄하는 유전질환이다. 타액선 종양 혹은 비타액선 두경부 종양 또한 타액선 도관을 압박하거나 침범할 수 있다. 이 경우 일차적 원인이 되는 질환의 치료가 타액선 기능 이상을 해결할 수 있다.

타액선 실질의 파괴가 자가면역질환, 방사선 치료, 혹은 감염의 결과로 인해 일어날 수 있다. 자가면역 질환에 의한 타액선 침범은 원발성 혹은 속발성 형태의 건조 증후군과 관련이 있을 수 있다. 원발성 형태의 건조 증후군의 특징은 누선과 타액의 침범을 일으키는데, 보통 구강건조증과 안구건조증을 동반한다. 속발성 형태는 전신성 홍반성 낭창, 공피증, 만성 간담낭 질환, Raynaud 현상과 같은 최소한 하나의 결합 조직 질환을 동반한다. 두가지 형태 모두 국소적인 염증성 침윤을 일으켜 타액선의 종창을 야기시키고 타액선 실질의 점진적인 파괴를 일으킨다.

대부분의 건조증후군 환자는 부분적으로 타액선 기능을 가지고 있지만 종종 타액선의 점진적인 파괴가 지속되어 타액선 기능의 완전한 상실이 일어나기도 한다. 건조증후군 환자에서와 유사한 조직학적 소견을 보이는 면역관련 타액선 기능 이상이 백혈병 같은 질환으로 인해 골수 이식을 받는 환자에서 보고된 바 있다. 이러한 환자에서는 모든 면역 담당 세포를 방사선 조사로 파괴시킨후 정상 골수이식의 형태로 새로운 면역세포를 받는다. 일부분의 환자는 이식된 면역세포가 숙주를 이물질로 인식하고 타액선에 대해 면역반응을 일으킬 수 있다. 이러한 반응은 구강건조증을 일으킬 수 있으며 소타액선의 sIgA의 분비 감소를 일으킬 수 있다.

모든 타액선은 두경부 종양의 치료에 쓰이는 용량의 방사선에 손상을 받을 수 있으며 손상 정도는 타액선마다 다르다. 방사선 조사 직후, 이하선 기능의 5% 이하만이 존재하며 악하선과 설하선은 방사선 조사에 저항이 크므로 약 25% 정도 기능을 보유하고 있다. 그러나 3년후 5% 이하로 떨어진다.

타액선 감염증은 일차적 전신적 감염증, 그예로 유행성 이하선염(mumps) 혹은 다른 타액선 기능 이상으로 인한 이차적인 국소적 역행성(retrograde) 감염증의 결과로 인해 일어날 수 있다. 유행성 이하선염은 mumps 바이러스를 포함하고 있는 타액과 직접 혹은 간접적 접촉을 통하여 전염되는 바이러스 감염이다. 이 바이러스의 일차적 표적은 이하선 이지만 성선(gonads), 췌장, 중추신경계, 심장도 감염될 수 있다. 이 경우 이하선 종창과 타액선 실질의 국소적 괴사가 특징적이다. 이 질환도 3~7일간 지속되는 자기한정적 질환이며 영구적인 타액선 기능 이상을 일으키지는 않는다.

국소적인 역행성 감염은 타액선 분비율 감소의 이차적 결과이다. 타액선 도관을 통한 타액의 흐름은 타액선으로의 구강내 세균의 이동을 막는 자연적인 방어막이다. 타액선 분비가 감소될 동안 세균은 타액선 도관을 타고 올라와 타액선 실질에 급성 혹은 만성 화농성 감염을 일으킨다. 이러한 형태의 감염은 타액선 분비율 감소를 일으키는 상태와 같이 일어날 수 있고 주로 유아에서의 탈수시 혹은 노년층이나 쇠약한 환자에서

주로 일어난다.

많은 약물들이 자율신경절 혹은 신경절후 시냅스 부위의 신경 임펄스에 영향을 미침으로써 중추신경계 기능을 변화시켜 자율신경계에 영향을 미치는 것으로 알려져 있다. 신경절후 부위에서 교감신경 작용성(sympathomimetic) 혹은 부교감신경 작용성(parasymathomimetic) 약물은 일반적으로 분비물의 이동을 촉진하거나 선포의 분비를 촉진시킴으로써 타액의 분비를 촉진시키는 반면 교감신경 차단성(sympatholytic) 혹은 부교감신경 차단성(parasympatholytic) 약물은 타액분비를 감소시킨다. 또한 파킨슨 질환시의 신전, 다양한 정신장애, 고혈압과 같은 심각한 상태를 치료하는 약물은 타액의 분비를 감소시키거나 타액 성분을 변화시킬 수 있다.

타액의 분비를 증가시키는 약물로는 Strychine과 Reserpine 같은 centrally acting drugs, 또 Pilocarpine, Muscarine, Neostigmine과 Physostingmine 같은 parasympathomimetic drugs, 그리고 Norepinephrine, Epinephrine과 Ephedrine 같은 sympathomimetic drugs가 있다. 그리고 타액의 분비를 감소시키는 약물로는 General anesthetics와 Barbiturates 같은 centrally acting drugs, 또 Atropine, Scopolamine과 Anti-histamine 같은 parasympatholytic drugs가 있으며, Phentolamine, Ergotamine과 Clorporomazine 같은 sympatholytic drugs가 있다. 또한 Psychoactiv drugs와 Hexamethonium 같은 ganglionic blockers도 여기에 속한다. 그리고 타액의 성분 변화를 야기시키는 약물로는 Digitalis와 같은 cardiac glycosides와 Methotrexate, Vincristine과 Cytoxan 같은 cancer chemotherapy drugs 등이 있다.

인간 타액의 주된 단백질과 당단백으로는 크기가 3~4 kDa으로 가장 작은 Histatins으로 부터 4~5 kDa인 Statherins, 14 kDa인 Lysozyme과 Cystatins, 10~30 kDa인 Proline-richproteins, 42~45 kDa인 Carbonic anhydrases, 55~60 kDa인 Amylases, 75~78 kDa인 Peroxidases와 Lactoferrin, 그리고 크기가 가장 큰 aIgA이 있는데 이것은 380 kDa 정도 이다.

타액은 구강내에서 완충작용, 소화작용, 광화작용, 윤활 및 점탄성성(viscoelasticity), 점막보호작용, 항진균작용, 항바이러스작용, 그리고 항세균작용 등을 하는데 타액 성분에 따라 그 기능이 다양하게 나타난다.

완충작용에 관여하는 성분으로는 carbonic anhydrases와 histatins가 있고, 소화작용에는 amylases와 mucins이 관여한다. 또한 cystatins, histatins, proline-rich proteins, 그리고 statherins은 광화작용에 관여하고 mucins과 statherins은 윤활 및 점탄성성과 관련이 있다. amylases, cystatins, mucins, proline-rich proteins, 그리고 statherins은 점막을 보호하며 histatins은 항진균작용을 한다. 뿐만 아니라 cystatins와 mucins의 경우에는 항바이러스작용을 하고 amylases, cystatins, histatins, mucins, 그리고 peroxidases 등은 항세균역할을 한다.

amylase는 496 amino acids로 구성되어 있으며 5개의 disulfide bond를 가지고 있다. amylase는 starch를 분해시키고 viridans streptococci와 반응하며 hydrdoxyapatite와 결합한다[34-38]. 만약 disulfide bond가 끊어지면 구조적 안정이 파괴되고 생물학적 활성을 잃는다[39].

mucin은 윤활, 조직부착, 소화기능과 바이러스뿐만 아니라 세균, 진균과도 작용한다[40]. statherin과 같은 작은 물질은 석회화[41,42], 윤활[43] 및 세균과의 작용[44]에 관계한다. 한 물질에 의해 나타나는 여러 기능은 특정 bioactiv domain 때문일 수도 있고 전체 물질 자체 때문일 수도 있다.

타액의 물질들은 여유기능(redundancy)을 갖는데 그예로 여러 타액물질들이 calcium phosphate salts의 침전을 저해할 수 있다. statherin과 acidic proline-rich protein 같은 강력한 저해제도 있고, histatin과 cystatin같은 중정도의 저해제가 있으며, mucin이나 amylase 같은 약한 저해제도 있다[36]. 그러므로 statherin의 농도가 낮은 사람은 높은 농도의 acidic proline-rich protein에 의해 보상이 가능할 수 있다.

타액내의 물질 들은 또한 한 물질이 보호기능과 파괴기능을 동시에 같기도 하는데 이런 양면기능성(amphifunctionality)은 물질의 위치나 활

성 부위에 의존할 수 있다. 예를 들면 amylase는 용액내에서 다양한 viridans streptococci와 반응하여 구강내 청정작용을 촉진시킨다[34]. 이러한 점은 보호작용에 도움이 되는 작용이라 할 수 있다. 그러나, amylase가 치아면에 흡착되면 세균의 부착을 증가시키고 음식물 속의 starch를 maltose로 분해하여 세균으로 하여금 산 생성을 증가시킨다[37]. 미세환경에서 산 생성은 법랑질을 용해시키고 치아우식증을 일으킨다.

또 다른 보기로 statherin과 acidic proline-rich protein이 있다. 법랑질 표면에서 이러한 물질들은 일차성 혹은 이차성 calcium phosphate salts형성을 방해함으로써 석회화에 중요한 역할을 한다[41]. 그러나 법랑질 표면에 흡착된 이러한 물질들은 우식유발성 미생물의 부착을 촉진시킬 수 있다[44].

mucin은 disulfide bond를 통하여 end-to-end oligomer를 형성할 수 있다[45]. mucin oligomer 형성은 윤활 및 점탄성 성질을 수행하는데 필요하다. 또한 다양한 구강내 조직에 부착하는 mucin은 sIgA, lysozyme, cystatin과 같은 항균물질과 이형성 결합체(heterotypic complex)를 형성할 수 있다[40,46]. 이러한 결합체는 주로 비공유성 이온결합에 의해 형성되며 타액-조직 접촉면에서 항균물질의 농도를 증가시킨다. 이러한 타액내 물질의 결합성(complexing)으로 결합체를 형성하는 개개 물질이 보유한 기능보다 추가적인 기능을 보유할 수 있다.

구강건조증의 원인인 스트레스에 대해서는 특히 여러 논문에서 언급되고 있는데[5-8] Kleinhauz 등[9]이 인성검사의 검사치가 불안정하게 표현된 환자에게서 구강건조증이 많이 나타났다고 보고하였을 뿐 아니라 Fox와 Howell[47]은 구강건조증을 유발하는 Sjögren 증후군과 같은 자가면역질환도 사회생활에서 오는 스트레스가 원인이 된다고 보고하면서 이것으로 인하여 구강동통이 발생될 수 있다고 하였다.

많은 경우에 있어서 타액분비가 많은 사람도 구강건조증을 호소하며, 타액분비가 거의 없는 사람도 건조증을 호소하지 않는 경우가 종종 있다. 그러므로 구강건조증의 치료는 타액분비율을 측정한 다음 시행되어야 한다. 따라서 일반적으로 타액분비율 측정, 방사선 검사, 생검 등을 통한 감별진단을 하여야 한다. 이러한 정보는 추가적인 타액생성을 촉진할 수 있도록 하여야 하는지 즉, 내원성 치료(intrinsic therapy)인지 혹은 상실한 타액선 기능을 국소적으로 대체시켜 주어야 하는지 즉, 외인성 치료(extrinsic therapy)인지를 결정하도록 해준다.

내원성 치료는 약물을 사용하는 것으로 dilute citric acid, pilocarpine, bromhexine 등을 사용하여 남아있는 타액선의 기능을 자극하는 것이다. 최근 유전자 요법이 상실된 타액선 기능을 회복시키거나 보강시킬 목적으로 사용되는 또 하나의 내원성 치료법이다. pilocarpine 같은 약물을 사용한 치료법은 이 약물의 부작용으로 인해 실험적인 사용단계를 벗어나지 못하고 있다.

외인성 접근법은 가장 널리 사용되고 있는 방법으로서 타액대체용액으로 주기적으로 구강을 세척하는 것이다. 가장 많이 사용되는 제제는 carboxymethylcellulose나 xylitol, sorbitol 같은 sugar alcohol이다. 그러나, 이러한 제제는 맛이 좋지 않고 구강점막을 자극할 뿐만 아니라, 구강내 잔유정도가 적다. 더 좋은 치료제제는 윤활력, 조직부착력 및 습윤성 그리고 항균능력에 있어서 좀 더 지속적인 효과를 지녀야 한다.

외인성 물질은 천연적인 것과 인공적인 것으로 나눌 수 있다. 타액 분자물질이나 유도체와 같은 자연물질은 생체 적합성이 좋다는 장점을 가지고 있으며 현재 쉽게 구입가능한 몇몇 인공타액이 있다[48,49]. 이러한 물질들은 대개 carboxymethylcellulose, electrolytes, fluorides, preservatives, sweetener를 포함하고 있다.

또한 소의 악하선이나 돼지의 위추출물을 사용하여 mucin 함유 인공타액을 개발하기 위한 시도가 행하여지고 있다. 이러한 상품은 유럽에서의 임상연구에서는 어느정도 성공을 보고하고 있으나[50,51] 현재 미국에서는 사용되지 않고 있다.

인공타액은 정상적인 타액분비를 보이는 사람에게 도움을 줄 수 있으나 치면세균막에 의해 매개되는 질환, 점막의 상태, 혹은 교합이상에도 영

향을 미칠 수 있다. 교합기능이상이 있는 사람은 윤활제가 들어있는 인공타액을 사용하여 과도한 교합력에 저항하고 법랑질 마모를 막을 필요가 있을 수 있다. 이 경우 타액내에서 주요 계면 윤활제(boundary lubricant)로 작용하는 statherein이 주요 성분이 될 수 있다[44].

타액 기능이상이 있는 사람은 반응자(responder)와 비반응자(non-responder)로 구분될 수 있다[49]. 반응자는 어느 정도의 타액분비가 남아있는 사람으로서, citric acid나 다른 약물에 의해 분비가 촉진될 수 있다. 비반응자는 타액분비를 보이지 않는 사람으로서 대부분이 구강내 종양 때문에 두경부에 방사선 치료를 받은 환자이다.

1993년 Steenberghe 등[52]은 방사선 조사에 의한 12명의 구강건조증 환자에게 각각 일반 세치제와 Peroxidase system을 함유한 세치제(Biotene^{R})로 52일간 양치질 시킨 후 Plague Index, Sulcus Bleeding Index, Periodontal Pocket Bleeding Index, 치주낭 깊이 측정, 현미경 조직 관찰을 시행한 결과 , 치주낭 깊이나 치은연하치석의 변화는 차이가 없었지만, Peroxidase system함유 세치제군에서 모든 치주지수가 감소 되었으며 치은연상치태 형성의 감소, 치은 염증의 감소가 나타났음을 보고 하였다.

1994년 Banoczy[53]은 구강건조증 환자에서 Peroxidase system을 함유한 gel type제제를 투여한 후, 그 효과를 보고하였다. 41명의 구강건조증 환자를 대조군과 실험군으로 나누어 대조군에게는 Biotene tooth paste만을, 실험군에게는 Biotenetooth paste와 Oralbalance gel을 같이 적용한뒤, 1개월 후에 설문지를 통한 주관적 증상, 타액분비량 측정, 미생물수의 변화, 구강점막의 변화를 관찰 하였다. 그 결과, 타액분비량의 병화는 보이지 않았지만, 실험군에서 여러가지 주관적인 증상들의 현저한 감소가 나타났으며, 타액내 Lactobacilli와 Streptococcus mutans수의 감소 양상을 보였다. 또한 두군 모두에서 구강점막 조직에서의 염증감소 소견이 나타남을 보고하였다.

스트레스(stress)는 외부의 모든 요구에 대해 생체가 비특이적으로 반응하는 것인데, 스트레스원(stressor)에 의해 스트레스를 받게되면 생체는 일반적 적응 체계(general adaptation system : GAS)인 놀람기(alarm), 저항기(resistance) 및 탈진기(exhaustion)를 거치게 된다[10].

스트레스는 생리적으로 자율신경계, 내분비계 또는 면역계등에 영향을 미치게 되는데[11], 갑자기 닥친 심한 스트레스가 정신기능에 장애를 일으키면 해리장애(dissociative disorders)가 일어나고, 운동신경기능에 장애를 일으키면 전환장애(conversion disorders)가 일어나며, 자율신경이나 말초신경에 장애를 일으키면 심신장애(psycosomatic disorders)를 초래하게 된다[54].

본 실험에서 연구대상으로 삼은 타액선 기능장애에 의한 구강건조증도 이와 같은 자율신경계에 나타나는 심신장애의 하나이다.

스트레스의 인지과정은 신경내분비계(neuroendocrine system)의 조절로 생리적 및 정서적 반응을 나타낸다. 즉, 인체의 비 특이적 반응인 교감신경성 부신수질계(sympathetic adrenal-medullary system : SAM system)와 뇌하수체성 부신피질계(pituitary adrenal-cortical system : PAC system)를 중계하여 나타나는 것이다.

교감신경성 스트레스반응은 부신수질 추출물을 생체에 주사하였을 경우에도 동일하게 나타나며, 그 증상으로는 관상동맥 확장, 근육수축, 수의근의 혈관확장, 위장계의 혈관수축 등이 있다.

일반적으로 심리적 스트레스에서는 혈장 norepinephrine 보다는 epinephrine 분비량이 증가되고, 물리적 스트레스에서는 혈장 norepinephrine이 더 증가된다고 보고되어 있으나, 이와 같지 않은 경우도 관찰된다.

교감신경성 부신수질계는 육체적 또는 정신적 노력과 정서적 자극에 의해서 epinephrine, norepinephrine 및 catecholamines을 유리시키며[55-57], 뇌하수체성 부신피질계는 고뇌, 분노, 우울 및 무절제 등에 의해서 corticosteroid와 cortisol[58,59]을 분비시키게 되는데, 실험적으로도 한냉 스트레스를 부여했을 때 흰쥐에서는 혈장 norepinephrine 수치가 증가되었고[60] 뇨중 catecholamine의 분비량도 변화되었으며[61] 개의 경

우에서는 혈장 17-hydroxycorticoid와 norepinephrine의 양이 증가되었다[62]는 많은 연구논문들이 있다.

또한 Calabrese 등[12]은 스트레스, 별거 및 우울은 면역학적 기능을 취약하게 한다는 명백한 증거가 있다고 보고하였고, Kiecolt-Glaser 등[13]도 고독이나 스트레스와 뇨중 cortisol치 등의 면역기능과의 상호관계에 대해서도 언급하였으며, Kiecolt-Glaser 등[14]은 일상적으로 일어나는 스트레스에 의해서도 면역기능의 저하가 초래된다고 보고한 바 있어, 스트레스시 나타나는 신체적 변화에 대해서도 많은 관심을 가지고 있다.

스트레스와 구강 질환과의 관계는 최근에 발표된 홍과 전[15]의 연구에서 잘 나타나 있는데, 스트레스는 이제 더 이상 형이상학적 차원이 아니라 구체적이고 가시적인 증상과 징후를 동반하는데 특히 정동 스트레스(emotional stress)시에는 구강내에서도 다양하게 나타나는 것으로 알려져 있다.

구체적으로 스트레스가 주원인인 병소로는 편평태선(lichen planus)과 아프타성 구내염(aphthous stomatitis)이 있고[63-65], 스트레스가 관여된 병소로는 다형홍반(erythema multiforme), 양성점막유천포창(benign mucous membrane pemphigoid) 및 지도상설(geographic tongue)이 있으며[66-68], 스트레스가 소인인 병소로는 재발성 단순포진 구내염(reccurent herpes simplex stomatitis)과 급성 괴사성 궤양성 치은염(acute necrotizing ulcerative gingivitis)등이 있다[69-71]. 또한 스트레스성 습관때문에 나타나는 병소로는 못물기 등에 의한 외상(physical trauma with foreign objects), 흡연에 의한 백반증(leukoplakia due to smoking), 구강조직 깨물기(biting of oral tissue), 이갈이(bruxism)나 이악물기(clenching)가 있고[72-74], 스트레스성 구강 징후로는 설통(glossodynia)이나 설열감(glossopyrosis), 미각변화(altered taste perception), 미각소실(loss of taste) 또는 미각이상(foul taste) 그리고 조직의 변화없이 발생되는 동통이나 불편감(pain or discomfort with no tissue change) 등이 있다[75-77]. 더우기 이와같은 스트레스와 관련되어 나타나는 병소와 증상, 징후들은 많은 경우에 있어 구강건조증을 동반하게 되는데, 이것이 동반될 경우 그 증상의 정도는 더욱 심화되어 구강건조증은 임상적으로 매우 중요한 의미를 가지게 되는 것이다.

동물과 식물 조직에 존재하며 전자전달에 관여하는 철단백질인 Cytochrome[16]은 유핵세포에 존재하여 사립체에서 ATP(adenosine triphosphate) 생성과 관련된 호흡사슬의 전자전달계에 관여하는 산화-환원 운반체의 역할을 하는 단백질이며, 특히 소포체에서는 히드록시화 반응에 관여한다. 포유동물의 전자전달계에는 7종류가 알려져 있는데, 이들은 α 흡수띠에 따라서 a, b, c로 분류하기도 한다.

간장 미소체 효소(hepatic microsomal enzyme)는 활면내형질세망(smooth surface endoplasmic reticulum)에 존재하면서 약물의 산화반응을 비롯하여 glucuronid 포함, 일부 가수분해반응 그리고 스테로이드 호르몬과 지질 대사에 관여하는데, 간장 미소체의 20%를 차지하고 450nm에서 최고의 흡광도를 나타내는 환원상태의 Cytochrome P450은 약물과 산소의 결합부위를 제공해 주기도 한다. 따라서 일반적으로 약물의 대사속도는 Cytochrome P450의 양 즉, Cytochrome P450과 약물의 결합능력 그리고 세포막을 통과하기 위한 약물의 지방용해도에 의해 영향을 받게되는 것이다.

Cytochrome P450 IIE은 1982년에 Koop등[18]에 의해 순수 분리되었고, 기질의 특이성과 유도 대사과정에 대해서도 이미 밝혀진 바있는데[19] 이 Cytochrome P450은 내인성 화합물과 aceton, ether, CCl_4, benzen, pyrazole 및 pyridine과 같은 외인성 화합물[20-24], 그리고 nitrosamine과 같은 수용성 발암물질의 대사과정에 중요한 역할을 하며[25-27], acetaminophen(Tylenol™)이나[78,79] 특히 알콜 섭취시에는 암의 발생을 높이고[28], 간독성을 증가시키는 것[29]으로 알려져 있어, 질병의 원인이나 진행과정을 추적하는데 매우 중요한 인식자로 사용되어지고 있다[30].

또한 testosterone[80]이나, 항결핵 및 항나병제인 isoniazid[81]등의 투여나, 고지방 식이[82], 기아

[83,84]상태에서 증가되며, 실험적으로 streptozotocin으로 유도된 당뇨 쥐[85,86]에서도 증가된다는 보고가 있다. 뿐만 아니라 Cytochrome P450은 간독성을 증가시키는[29] 만성적인 알콜섭취시에도 뇌에서 다량 검출되는 것[87]으로 보아 CytochromeP450의 각 장기에 대한 영향과 그 효과에 대해서는 향후 많은 연구가 필요하리라 생각된다.

강력한 환원제로 열과 공기에 약하고, 산성에서 보호되는 비타민 C(ascorbic acid)는 포도당의 유도체인 6탄당화합물 Lactone으로서 좌성(L-) 이성체만이 활성물질로 작용하는데, 주로 교원질합성이나 스테로이드합성, 엽산의 변환, tyrosine의 대사 그리고 세포간질 합성에 관여하며, 암[88], 류마토이드 관절염, 및 골질환[89]의 치료목적으로도 다량의 용량이 사용되기도 한다. 더우기 비타민 C는 비타민 E, beta-carotene 등과 더불어 산화를 방지하고[90] Cytochrome P450 대사에도 중요한 역할을 하며, 특히 ascorbic acid 결핍시에는 Cytochrome b_5와 Cytochrome c 환원제(EC 1.6.99.3)에 영향을 미치며[91,92], 기질의 수산화와 탈메틸화에도 영향을 미친다[93,94].

더우기 본 실험의 대상으로 삼았던 타액선 세포의 표면에는 alpha, beta-adrenergic, muscarinic -cholinergic, substance P, vasoactive intestinal peptide hormone, 그리고 ATP 수용체 등이 있을 뿐만 아니라 특히 선포세포에는 ascorbate가 고도로 농축되어 있어서 pyrimidines, intracellular calcium, catecholamines, 그리고 타액선 분비에 관여하는 기타 여러 종류의 신경전달물질들의 대사에 관여한다고 알려져 있다[95].

이에 저자는 구강건조증을 야기시키는 타액선의 기능장애시에 비타민 C에 의해 영향을 받는 Cytochrome P450의 변화를 타액선 조직에서 구명하려 하였으며, 또한 1995년 홍과 전[31]의 연구에서 알콜 투여시에서 뿐만 아니라 스트레스 부여시에도 해명(guinea pig)의 간 조직에서 Cytochrome P450 IA1(CYPIA1), Cytochrome P450 IA2(CYPIA2), 및 Cytochrome P450 IIB1(CYPIIB1)등이 뚜렷이 발현되었던 결과를 바탕으로 스트레스 부여시에 타액선 조직에서의 Cytochrome P450이 구강건조증과 상호 관련성이 있는지의 여부를 관찰해 보려 하였다. 그러나 본 실험에서 대조군으로 사용하였던 간 조직내에서는 알콜 투여군, 스트레스 부여군, 그리고 알콜-스트레스 병용군 모두에서 Cytochrome P450 IIE1이 다량 검출되었고, 타액선 조직에서는 매우 미약하게 관찰되기는 하였으나 이하선과 악하선 사이에는 다소의 차이가 관찰되었고, 특히 이하선 조직에서는 정상과 스트레스 부여군, 알콜-스트레스 병용군에서 미약하게나마 차이를 발견할 수 있었기 때문에 향후 Cytochrome P450 IA1(CYPIA1), Cytochrome P450 IA2 (CYPIA2), 및 Cytochrome P450 IIB1(CYPIIB1) 등의 Cytochrome P450의 다양한 동족항체로 계속적인 확인이 요구될 것으로 사료되며, 면역전기영동법 이외에도 면역형광검사법 등의 새로운 관찰법으로 다양하게 관찰하는것도 중요하리라 생각된다

V. 결 론

저자는 알콜과 스트레스가 타액선 조직에 미치는 영향을 관찰하고자 알콜대사시 유도되며, 발암전구물질을 활성화시킨다고 알려진 Cytochrome P450 IIE1(CYPIIE1)을 이용하여 생후 6주된 웅성 백서 16마리를 사용하여 대조군, 알콜 투여군, 스트레스 부여군 그리고 알콜-스트레스 병용군으로 나누어 각각 4마리씩을 배정하였다.

실험 1주간 알콜 투여군은 물대신 알콜(15%)을 투여하였고, 스트레스 부여군은 한냉 스트레스를 일일 2회 30초간 3~5°C 냉수에서 잠수시켜 매일 부여하였으며, 알콜-스트레스 병용군은 물대신 알콜(15%)을 투여하면서 한냉 스트레스를 일일 2회 30초간 3~5°C 냉수에서 잠수시켜 매일 부여하였고, 나머지 4마리는 대조군으로 사용하였다.

실험 동물은 각군 공히 4마리씩 실험 1주에 희생시켜 악하선 조직, 이하선 조직 및 간 조직을 적출하여 즉시 -70°C에 냉동보관후 경희대학교 치과대학 구강내과학교실 실험실에서 면역전기영동법으로 검색하여 다음과 같은 결과를 얻었

다.

1. Cytochrome P450 IIE1(CYPIIE1)은 간 조직에서 뚜렷하게 관찰되었고, 악하선과 이하선 조직에서는 미약하였으나 악하선 보다는 이하선에서 다소 우세하였다.
2. Cytochrome P450 IIE1(CYPIIE1)은 간 조직, 악하선과 이하선 조직의 정상군에서는 반응이 매우 미약하였으나 알콜 투여군, 스트레스 부여군, 및 알콜-스트레스 병용군에서는 존재가 확인 되었다.

참 고 문 헌

1. 이승우 : 구강진단학, 4판, 고문사, 서울, 1990, pp17.
2. 이종혼, 김중수 : 구강생리학, 3판, 군자출판사, 서울, 1989, pp204-206.
3. 김기석 : 구강질환의 감별진단, 4판, 지성출판사, 서울, 1991, pp117.
4. 김기석 : 구강질환의 감별진단, 4판, 지성출판사, 서울, 1991, pp62.
5. Browning, S., Hislop, S., Scully, C., and Shirlaw, P. : The association between burning mouth syndrome and psychosocial disorders. Oral Surg. 64 : 171-174, 1987.
6. Hampf, G., Vikkula, J., Ylipaavalniemi, P., and Aalberg, V. : Psychiatric disorders in orofacaial dysaesthesia. Int. J. Oral Maxillofac. Surg. 16:402-407, 1987.
7. Lamb, A.B., Lamey, P-J., and Reeve, P.E. : Burning mouth syndrome : Psychological aspects. Br. Dent. J. 165 : 256-260, 1988.
8. van der Ploe, H.M., van der Wal, N., Eijkman, M.A.J., and van der Waal, L. : Psychological aspects of patients with burning mouth syndrome. Oral Surg. 63 : 664-668, 1987.
9. Kleinhauz, I.E.M., Baht, R., and Littner, M. : Antecedents of Burning Mouth Syndrome - recent life event vs. psychopathologic aspects. J. Dent. Res. 73 : 567-572, 1994.
10. Seley, H. : The general adaptation syndrome and the disease of ada ptation. J. Clin. Endocrinol. 6 : 117, 1946.
11. Milsum, J.H. : A model of the eustress system for health/illness. Be havioral Science, 30 : 179-186, 1985.
12. Calabrese, J.R., Kling, M.A., and Gold, P.W. : Alteration in immunoc ompetence during stress, bereavement ang depression : Focus on neuro endocrine regulation. Am. J. Psychiatry, 149. 9. : 1123-1134, 1987.
13. Kiecolt-Glaser, J.K., Garner, W., Speicher, C., Ricker, D., George, J., Missick, G. and Glaser, R. : Urinary cortisol levels cellular immunoco mpetency and Loneliness in Psychiatric Inpatients. Psychosomatic Me dicine, 46(1) : 15-30, 1984a.
14. Kiecolt-Glaser, J.K., Garner, W., Speicher, C., Penn, G.M., Holliday, J. and Glaser, R. : Psychosocial modiffiers of immunocompetence in medical students. Psychosomatic Medicine, 46(1) : 7-14, 1984b.
15. 전양현, 홍정표 : 스트레스와 구강질환. 대한심신스트레스학회지, 3(1) : 57-72, 1995.
16. Dorland : Illustrated Medical Dictionary. 25th ed., pp.403, Saunders, 1974.
17. Yun, Y.P., Casazza, J.P., Sohn, D.H., Veech, R.L. and Song, B.J. : Pretranslational activation of cytochrome P450IIE during ketosis induced by a high fat diet. Molecular Pharmacology, 41 : 474-478, 1991.
18. Koop, D.R., Morgan, E.T., Tarr, G.E. and Coon, M.J. : Purification and characterization of a unique isozyme of cytochrome P450 from liver microsomes of ethanol-treated rabbits. J. Biol. Chem., 257 : 8472-8480, 1982.
19. Koop, D.R., Crump, B.L., Nordblom, G.D. and Coon, M.J. : Immunoc hemical evidence for induction of the alcohol-oxidizing cytochrome P450 of rabbit liver microsomes by diverse agents : ethanol, imidazole, trichloroethylene, acetone, pyrazole, and isoniazid. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 82 : 4065-4069, 1985.
20. Koop, D.R. and Casazza, J.P. : Identification of ethanol-inducible P450 isozyme 3a as the acetone and acetol monooxygenase of rabbit microsomes. J. Biol. Chem. 260 : 13607-13612, 1985.
21. Lieber, C.S., and DeCarli, L.M. : Ethanol oxidation by hepatic microsomes : adaptive increase after ethanol feeding. Science (Washington D.C)., 162 : 917-918, 1968.
22. Johansson, I., and Ingelman-Sundburg, M. : Carbon tetrachloeide-induced lipid peroxidation dependent on an ethanol inducuble from of rabbit liver microsomal cytochrome P450. FEBS Lett., 183 : 265-

269, 1985.
23. Johansson, I., and Ingelman-Sundburg, M. : Benzene metabolism by ethanol-, acetone-, and benzene-inducible cytochrome P450(IIE1) in rat and rabbit liver microsomes. Cancer Res., 48 : 5387-5390, 1988.
24. Kim, S.G., Williams, D.E., Schuetz, E.G., Guzelian, P.S. and Novak, R.F. : Pyridine induction of cytochrome P450j(alcohol-inducible form) in pyridine N-oxidation. J. Pharmacol. Exp. Ther., 246 : 1175-1182, 1988.
25. Yang, C.S., Tu, Y.Y., Koop, D.R. and Coon, M.J. : Metabolism of nit rosamines by purified rabbit liver cytochrome P450 isozymes. Cancer Res. 45 : 1140-1145, 1985.
26. Tu, Y., and Yang, C. : Dimethylation and dinitrosation of nitrosamines by cytochrome P450 isozymes. Arch. Biochem. Biophys. 242 : 32-40, 1985.
27. Thomas, P., Bandiera, S., Maines, S., Ryan, D.E. and Levin, W. : Regulation of cytochrome P450j, a high-affinity N-nitrosodimethylamine demethylase, in rat hepatic microsomes. Biochemistry, 26 : 2280-2289, 1987.
28. Leiber, C., Garro, A., Leo, M., Mak, K.M. and Worner, T. : Alcohol and Cancer. Hepatology, 6 : 1005-1019, 1986.
29. Seeff, L., Cuccherini, B., Zimmerman, H., Adler, E. and Levin, W. : Acetaminophen hepatotoxicity in alcoholism. Ann. Int. Med., 104 : 399-404, 1986.
30. Buchmann, A., Wannemacher, R., Kulzer, E., Buhler , D.R. and Bock, K.W. : Immunohistochemical Localization of the Cytochrome P450 Isozymes LMC2 and LMB(P4501A1) in 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxin Treated Zebrafish (Brachydanio rerio). Toxicol. App. Pharmacol. 123 : 160-169, 1993.
31. 전양현, 홍정표 : 알콜과 스트레스가 Cytochrome P450 발현에 미치는 영향에 관한 면역학적 연구, 대한구강내과학회지, 20(2) : 461-476, 1995.
32. 성호경 : 생리학, 4판, 의학문화사, 서울, 1989, pp 537
33. 이종흔, 김중수 : 구강생리학, 3판, 군자출판사, 서울, 1989, pp187
34. Scannapieco, F.A., Bergey, E.J., Reddy, M.S. and Levine, M.J. : Characterization of the Salivary α -Amylase Binding to Streptococus sanguis. Infect Immun. 57 : 2853-2863. 1989.
35. Douglas, C.W.I. : Characterization of the α-amylase receptor of Streptococus gordonii NCTC 7868. J Dent RES. 69 : 1746-1752. 1990.
36. Johnsson, M., Levine, M.J. and Nancollas, G.H. : Hydroxyappatite Binding Domains in Salivary Proteins. Crit Rev Oral Biol 4 : 371-378. 1993.
37. Torres, G.I., Scannapieco, F.A. and Levine, M.J. : Salivary Amylase Promotes the Adhesion of Streptococus gordonii to Hydroxyappatite. IADR, Prog & Abst 71 : No 469. 1992.
38. Tseng, c.c., Scannapieco, F.A. and Levine, M.J. : Use of a Replica-Plate Assay for the Rapid Assessment of Salivary Proteins-Bacterial Interactions. Oral Microbiol Immunol 7 : 53-56. 1992.
39. Scannapieco, F.A., Bhandary, K., Ramasubbu, N. and Levine, M.J. : Structural RElationship Between the Enzymatic and Streptococcal Binding Sites of Human Salivary alpha -Amylase, Biochem Biophys Res Commun. 173 : 1109- 1115. 1990.
40. Cohen, R.E. and Levine, M.J. : Salivary Glycoprotein. In : Human Saliva : Clinical Chemistry and Microbiology Vol.1, J.O. Tenovuo, Ed., Boca Raton : CRC Press, Inc., pp 101-130. 1989.
41. Hay, D.I. and Moreno, E.C. : Statherin and Acidic Proline-rich Proteins, IN : Human Saliva : Clinical Chemistry and Microbiology, Vol. 1, J.O. Tenivuo, Ed., Boca Ration : CRC Press, Inc., pp. 131-150. 1989.
42. Raj, P.A., Johnsson, M., Levine, M.J. and Nancollas, G.H. : Salivary Statherin : Dependence of Sequence, Charge, Hydrogen Bonding Potency and Hellcal Conformation for Adsorption to Hydroxyappatite and Inhibition of Mineralization. J Biol Chem 267 : 5968-5976. 1991.
43. Douglas, W.H., Reeh, E.S., Ramasubbu, N., Bhandary, K.K., Raj, P.A. and Levine, M.J. : Statherin : a Major Boundary Lubricant of Human Saliva. Biochem Biophys Res Commun. 180 : 91-97. 1991.
44. Gibbons, R.J. and Hay, D.I. : Human Salivary Acidic Proline-rich Proteins and Statherin Promote the Attachment of Actinomyces viscosus LY7 to Apatite surfaces. Infect Immun. 55 : 439-445. 1988.
45. Strous, G.J. and Dekker, J. : Mucin-type Glycoproteins, CRC Rev Biochem Mol Biol 27 : 7-92. 1992.
46. Biesbrock, L.A., Reddy, M.S. and Levine, M.J. : Interaction of a Salivary Mucin-Secertory Immunogloculin A Complex with Mucosal Pathogens. Infect Immun. 59 : 3462-3497. 1991.

47. Fox, R., Howell, F. : Oral problems in patients with Sjögren's syndrome. Scand. J. Rheumatol. Suppl., 61 : 194-200, 1986.
48. Levine, M.J., Aguirre, A., Hatton, M.N. and Tabak, L.A. : Artificial Salivas : Present and Future. J Dent Res 66 : 693-698. 1987.
49. Sreebny, L.M. : Xerostomia(Dry Mouth). In : The Salivary System, L.M. Sreebny, Ed, Boca Raton : CRC Press, Inc., pp.179-202. 1988.
50. Vissink, A., Schaub, R.M., Van Rijn, L.J., S-gravenmade, E.J., Panders, A.K. and Vermey, A. : The Efficacy of Mucin-Containing Artificial Saliva in Alleviating Symptoms of Xerostomia. Geodotology 3 : 95-101. 1987.
51. Blxt-Johansen, G., Ek, A.C., Ganowiak, W., Granerus, A.K., Von Schenck, H., Unosson, M.and Wiesel, K. : Improvement of Oral Mucosa with Mucin Containing Artificial Saliva in Geriatric Patients : Arch Gerontol Geriatr. 14 : 193-201. 1992.
52. Steenberghe, D., and Eynde, E.V. : Effect of a lactoperoxidase containing toothpaste in radiation-induced xerostomia, Int Dent J. 44 : 133-138. 1993.
53. Banoczy, J. : Report on a clinical syudy with " Oralbalance" gel in patients with oral mucasal diseases and "dry mouth syndrome", 1994.
54. 김영준 : 스트레스와 정신의학. 대한신심스트레스학회지, 1(1) : 97-102, 1993.
55. Frankenhaeuser, M. : Psychoneuroendocrine approaches to the study of the emotion as related to stress and coping. In H.E. Howe & R. A. Dienstbier(eds)., Nebraska symposium on motivation 1978. Lincon : University of Nebraska Press : 123-161, 1979.
56. Levi, L. : Stess and distress in responce to psychosocial stimuli. Act a. Med. Scand. (Supple., 528, 1972.
57. Lundberg, U. : Human psychology in Scandinavvia : II Psychoneuroe ndocrinology-human stress and coping processes. Scand. J. Psych., 25 : 214-226, 1984.
58. Frankenhaeuser, M. and Lundberg, U. : Sympathetic-adrenal and pit uitary-adrenal response to challenge. In P. Pichot, P. Berner, R. Wolf & K. Thau(Eds.., Psychiatry, Vol. 2, London : Plenum, pp.699-704, 1985.
59. Levine, S., Coe, C. and Wiener, S.G. : Psychoneuroendocrinology of stress : A psychobiological perspective. In Psychoendocrinology. Academic Press, pp.341-377, 1989.
60. Hata, T. : Catecholamine levels in the brain of specific alternation of rhythm in temperature (repeated cold)-stressed rats. J. Auton. Pharmacol., 7 : 257, 1987.
61. 김형석, 안재성 : 한냉스트레스하에서의 흰쥐 뇨중 Catecholamine의 분비량 변화에 관한연구. 대한신심스트레스학회, 1 : 17-26, 1993.
62. Sadowski, J., Kurkus, J. and Chwalbinska, J. : Plasma hormone and renal function change in unrestrained dogs exposed to cold. Am. J. Physiol., 228 : 376, 1975.
63. Macleod, R.I. : Psychologic factors in oral lichen planus. Br. Dent. J., 173(3) : 88, 1992.
64. Lowenthal, U. and Pisanti, S. : Oral lichen planus according to the modern medical model. J. Oral Med., 39 : 224-226, 1984.
65. Hampf, G., Vikkula, J., Ylipaavalniemi, P. and Aalberg, V. : Psychiatric disorders in orofacial dysaesthesia. Int. J. Oral Maxillofac. Surg., 16 : 402-407, 1987
66. Redman, R.S., Vance, F.L., Gorlin, R.J., Peagler, F.D. and Meskin, L.H. : Psycchological component in the etiology of geographic tongue. J. Dent. Res., 45 : 1403-1408, 1966.
67. Waldron, C.A. : Psoriasform lesions of the oral mucosa. Oral Surg., 37 : 872-888, 1974.
68. Wysocki, G.P., Daley, T.D. : Benign migratory glossitis in patients with juvenile diabetes. Oral Surg., 63 : 68-70, 1987.
69. Bierman, S.M. : A retrospective study of 375 patients with genital herpes simplex infections seen between 1973 and 1980. Cutis., 31 : 548-565, 1983.
70. Cogen, R.B., Stevens, A.W. Jr. and Cohen-Cole, S.A. : Stressed whites especially prone to "trench mouth" study finds. Med. News JAMA., 249 : 157-158, 1983.
71. Longo, D. and Koehn, K. : Psycosocial factors and recurrent genital herpes : A review of prediction and psychiatric treatment studies. Int's Psychi. Med., 23 : 99-117, 1993.
72. Shapiro, S. and Shanon, J. : Bruxism as an emotional reactive disturbance. Ariz. Dent. J., 12 : 13-

18, 1966.
73. Vernallis, F.F. : Teeth-grinding; some relationships to anxiety, hostility and hyperactivity. J. Clin. Psychol., 11 : 389-391, 1955.
74. Pingitore, G., Chrobak, V. and Petrie, J. : The social and psychologic factors of bruxism. J. Prosthet. Dent., 65 : 443-6, 1991.
75. Browning, S., Hislop, S. Scully, C. and Shirlaw, P. : The association between burning mouth syndrome and psychosocial disorders. Oral Surg., 64 : 171-174, 1987.
76. Lamb, A.B., Lamey, P.J. and Reeve, P.E. : Burning mouth syndrome : Psychological aspects. Oral Surg., 56 : 521-536, 1983.
77. Kleinhauz, I.E.M., Baht, R. and Littner, M. : Antecedents of Burning Mouth Syndrome-recent life event vs. psychologic aspects. J. Dent. Res., 73 : 567-572, 1994.
78. Morgan, E., Koop, D., and Coon, M. : Comparison of rabbit liver Cytochrome P450 isozymes in formation of a reactive metabolite of acetaminophen. Biochem. Biophys. Res. Commun. 112 : 8-13, 1983.
79. Raucy, J., Lasker, J., Lieber, C. and Black, M. : Acetaminophen activation by human liver Cytochrome P450 IIE1 & P450 IA2. Arch. Biochem. Biophys. 271 : 270-283, 1989.
80. Pan, J., Hong, J.Y., and Yang, C.S. : Post-transcriptional regulation of mouse renal Cytochrome P450 2E1 by testosterone. Arch. Biochem. Biophy. 299 : 110-115, 1992.
81. Park, K.S., Sohn, D.H. and Song, B.J. : Translational activation of ethanol-inducible Cytochrome P450(Cyp2E1) by isoniazid. Europ. J. Pharma. 248 : 7-14, 1993.
82. Yun, Y.P., Casazza, J.P., Sohn, D.H., Veech, R.L. and Song, B.J. : Pretranslational activation of Cytochrome P450IIE during ketosis induced by a high fat diet. Mol. Pharm. 41 : 474-478, 1992.
83. Hong, J.Y., Pan, J., Gonzalez, J.F., Gelboin, H.V. and Yang, C.S. : The induction of specific form of Cytochrome P450(P-450j) by fasting. Biochem. Biophy. Res. Commun. 142 : 1077-1083, 1987.
84. Tu, Y.Y., and Yang, C.S. : High-affinity nitrosamine dealkylase system in rat liver microsomes and its induction by fasting. Cancer Res. 42 : 623-629, 1983.
85. Past, M.R. and Cook, D.E. : Effect of diabetes on rat liver Cytochrome P450, Evidence for a unique diabetes-dependent rat liver Cytochrome P450. Biochem. Pharmacol. 31 : 3329-3334, 1982.
86. Peng, R., Tennant, P., Lorr, N.A. and Yang, C.S. : Alteration of microsomal monooxygenase system & carcinogenic metabolism by streptozotocin-induced diabetes in rats. Carcinogenesis (Lond). 4 : 703-708, 1983.
87. Anadatheerthavarada, H.K., Shankar, S.K., Song, B.J., Bramre, S., Boyd, M.R. and Ravindranath, V. : Induction of brain Cytochrome P450 IIE1 by chronic ethanol treatment. Brain Res. 601 : 279-285, 1992.
88. Cameron, E., Pauling, L., and Leibovitz, B. : Ascorbic acid and cancer. Cancer Res. 39 : 663, 1979.
89. Basu, T.K., Smethurst, M., Gillett, M., Donaldson, D., Jordan, S.J., Williams, D.C. and Hicklin, J.A. : Ascorbic acid therapy for the relief of bone pain in Paget's disease. Acta Vitam. Enzymol. (Milano). 32 : 45, 1978.
90. Frei, B. : Reactive oxygen species and antioxidant vitamins : mechanisms of action. Am. J. Med. Sep. 26. 97(3A) : 5S-13S, 1994.
91. Leber, H., Degkwitz, E. and Staudinger, H. : Studies on the effect of ascorbic acid on the activity and biosynthesis of mixed function oxy genases, as well as the concentration of hemoproteins in the micro some fraction of guinea pig. Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem., 350 : 4 39, 1969.
92. Degkwitz, E. and Kim, K.S. : Comparative studies on the influence of L-ascorbate, D-avabino-ascorbate and 5-oxo-D-gluconate on the amounts of cytochromes P450 and b5 in liver microsomes of guinea pig. Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem., 354 : 555, 1973.
93. Kato, R., Takanaka, A., and Ohshima, T. : Effect of Vitamin C deficiency on the metabolism of drug and NADPH-linked electron transport system in liver microsome. Jap. J. Pharmac. 19 : 25, 1969.
94. Zannoni, V.G., Flynn, E.J., and Lynch, M. : Ascorbic acid and drug metabolism. Biochem. Pharmac. 21 : 1377, 1972.
95. Enwonwu, C.O. : Ascorbate status and xerostomia. Med. Hypotheses, Sep. 39(1) : 53-57, 1992.

- ABSTRACT -

Immunological Study of Induction to Salivary Glands The Cytochrome P450(IIE1) by Stress in Rat

Jin-Pyo Lee, D.D.S., M.S.D. **Jung-Pyo Hong**, D.M.D., M.S.D., Ph.D.

Dept. of Oral Medicin, College of Dentistry, Kyung Hee University.

Cytochrome P450 is an oxidase involved in oxidation of alcohol and is known to be an activator of carcinogen.

The present study was perfomed to study the effect of alcohol and cold stress on the expression of Cytochrome P450 IIE1(CYPIIE1) in the liver and salivary glands in rats by an immunoblot analysis.

Sixteen rats were divided into 4 groups; 1)rats belonging to group I were allowed to take 15%(v/v) ethyl alcohol as a drink *ad libitum*; 2)rats of group II were bathed in cold water for 30 sec twice a day (during the one-week experiment); 3)rats comprising group III were received alcohol and cold stress as described above; 4)rats of group IV were selected as a control.

The rats were sacrificed at the end of the one-week experimet. The livers and parotid and submandibular salivary glands were removed and stored at -20°C until use. The stored organs were homogenized for 10 sec and the supernatants were obtained by centrifugation. The proteins of the supernatants were separated by sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis and subjected to Western blotting. The blotted membranes were incubated with polyclonal antibodies to CYPIIE1.

The obtained results were as follows :

1. The expression of CYPIIE1 was apparently negative in the liver and salivary glands of group IV, wheras its expression was marked in the experiment groups I, II, and III.
2. No difference in the expression of CYPIIE1 in the liver and salivary glands was observed between the experiment groups I, II, and III.
3. Among the experiment groups, the expression of CYPIIE1 in the liver was much greater than in the salivary glands. The expression of CYPIIE1 in the submadibular gland was weakly positive but was greater than in the parotid gland.

EXPLANATION OF FIGURES

Fig. 1. Photograph shows immunoblot analysis of Cytochrome P450 IIE1 (CYPIIE1) in the rat liver. (ST : standard marker, N : normal group, A : alcohol group, S : stres s group, AS : alcohol-stress group)

Fig. 2. Photograph shows immunoblot analysis of Cytochrome P450 IIE1 (CYPIIE1) in the rat submandibular gland.

Fig. 3. Photograph shows immunoblot analysis of Cytochrome P450 IIE1 (CYPIIE1) in the rat parotid gland.

논문사진부도

Fig. 1

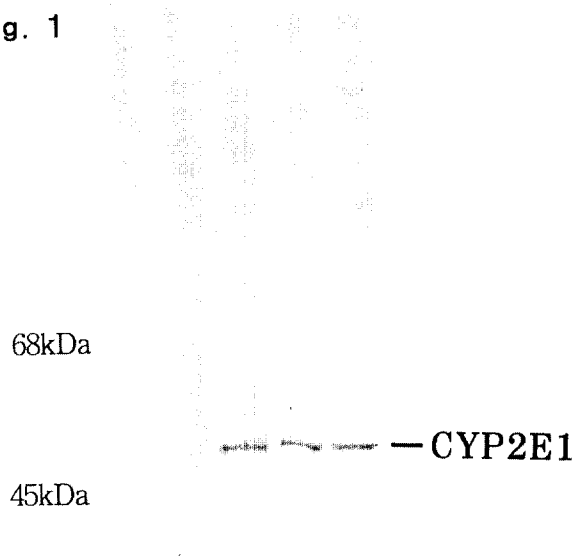

Fig. 2

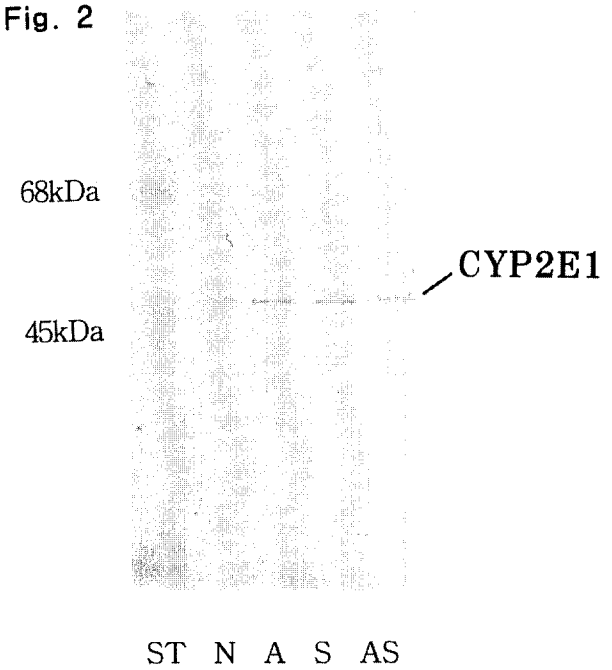
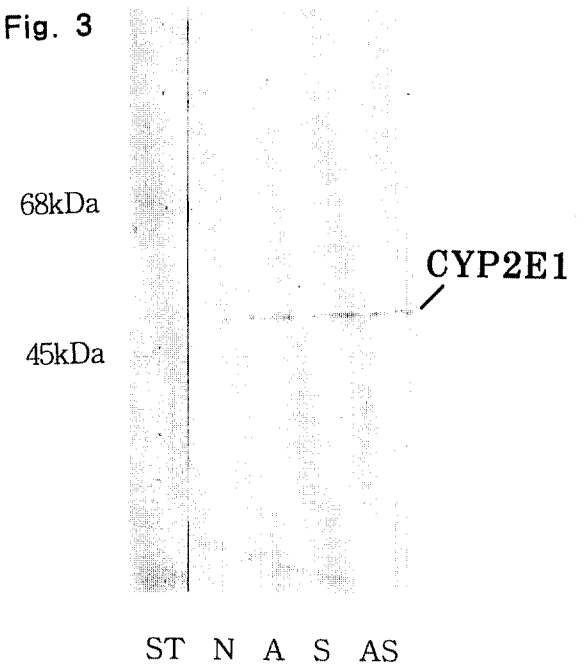
Fig. 3