

타액분비 및 선혈류 조절에 대한 내인성 산화질소의 역할

김 원 재 · 남 상 채¹ · 김 미 원¹

전남대학교 치과대학 구강생리학교실 및 치의학연구소, ¹전남대학교 의과대학 생리학교실

Role of Endogenous Nitric Oxide in the Control of Salivary Secretion and Blood Flow. Wonjae Kim, Sang Chae Nam¹, and Miwon Kim¹ Department of Oral Physiology & Institute of Dental Research, Chonnam National University Dental School and ¹Department of Physiology, Chonnam National Medical School, Kwangju 501-190, Korea

The present study was designed to investigate whether endogenous nitric oxide(EDNO) is involved in submandibular vasodilation and salivation induced by parasympathetic nerve stimulation. Effects of N^w-nitro-L-arginine-methyl ester (L-NAME) which blocks the synthesis of EDNO from L-arginine on the submandibular vasodilation and salivation induced by chorda stimulation or administration of various vasodilators were examined in anesthetized cats. Effect of L-NAME on K⁺ efflux induced by carbachol was also examined using the excised submandibular slice in vitro.

In the submandibular slices, acetylcholine(10⁻⁵ mol/L) or vasoactive intestinal polypeptide(VIP, 10⁻⁵ mol/L) increased NO₂ contents, which was prevented by pretreatment with L-NAME. Salivary secretion in response to the chorda stimulation(3 V, 1 msec, 10~20 Hz) was completely blocked by treatment with atropine(1 mg/kg). Increased blood flow response to the low frequency(1, 2, 5 Hz) stimulation was significantly reduced, whereas the blood flow induced by the higher frequency(10, 20 Hz) stimulation was not affected. Lingual-arterial infusion of L-NAME(100 mg/kg) significantly diminished the vasodilatory and salivary responses to the chorda stimulation at all stimuli frequencies used. Intra-arterial infusion of L-NAME(100 mg/kg) markedly diminished the vasodilatory responses to acetylcholine(5 µg/kg), VIP(5 µg/kg) or bradykinin(5 µg/kg). In the excised submandibular slice, K⁺ efflux in response to carbachol(10⁻⁵ mol/L) was significantly decrease by pretreatment with L-NAME(10⁻⁵ mol/L). In the isolated submandibular artery precontracted with phenylephrine(10⁻⁵ mol/L), the vasorelaxation induced by ACh(10⁻⁷ mol/L) was reversed into a contraction by methylene blue(10⁻⁴ mol/L).

These results suggest that EDNO may play an important role in vasodilation and secretion of the submandibular gland.

Key Words: Endogenous nitric oxide, Salivary gland, L-NAME, Blood flow, Salivation

서 론

Furchgott와 Zawadzki(1980)가 처음으로 혈관이 이완할 때 내피세포로부터 어떤 이완물질이 나올 것이라고 기술한 후 이를 endothelium-derived relaxing factor(EDRF)라 명명하였다(Cherry et al, 1982). 또한 내피세포에서 만들어진 EDRF는 혈관 평활근에서 soluble guanylate cyclase

를 활성화시켜 cyclic GMP 농도를 증가시킴으로써 혈관이완을 일으킴이 알려졌다(Griffith et al, 1984). 그후 Palmer 등(1987)에 의해 EDRF가 nitric oxide(NO) 유사물질이며, NO는 체내 아미노산인 L-arginine의 guanidine-nitrogen 인자가 nitric oxide synthase(NOS)에 의해 L-citrulline과 NO로 산화되면서 생성됨이 밝혀진 이래 이 물질의 생물학적 중요성이 인식되기 시작했다. NO 합성 효소는 cofactor로서 NADPH, FAD, FMN, tetrahydrobiopterin이 필요하며 분자생물학적 방법으로 지금까지 적어도 3가지 isoform NOS가 존재한다고 알려져 있으며 기능적으로는

책임저자: 김원재, ☎ 501-190 광주광역시 동구 학1동 5번지
전남대학교 치과대학 구강생리학교실

constitutive form과 inducible form으로 구분된다(Förstermann et al, 1991). Constitutive form은 혈관 내피세포와 중추신경계 신세포상피세포 등에 존재하며 Ca^{2+} /calmodulin 의존성으로 이 효소가 세포질내 Ca^{2+} 증가에 의해 자극된다. 반면 inducible form은 대식세포, 백혈구, 혈관 평활근에서 발견되며 constitutive form과는 달리 Ca^{2+} /calmodulin 비의존성이고 endotoxin(bacterial lipopolysaccharide), cytogene(tumor necrosis factor, IL-1 β) 등에 의해 활성화된다.

지금까지 밝혀진 NO의 생리학적 역할들을 보면 혈관 평활근을 이완시킬 뿐만 아니라 위장관 및 음경해면체에서 NANC(non-adrenergic, non-cholinergic) neurotransmission의 매개물로 작용(Bult et al, 1990), 중추신경계에서 신경전달물질로 작용(Garthwaite, 1991; Meller & Gebbart, 1993), 혈소판 응집 억제작용(Azuma et al, 1986; Furlong et al, 1987) 등으로 L-arginine/ NO/cyclic GMP pathway의 존재는 거의 모든 세포에서 밝혀져 있다. 그러나 외분비선인 타액선에서 NO의 역할과 작용에 관한 연구는 Edwards와 Garrett(1993)가 고양이 악하선 혈류조절에 NO가 관여한다는 보고이외는 이루어지지 않고 있다. 특히 타액선 세포에서 직접 타액분비 기전에 대한 NO의 역할과 작용기전에 대한 연구는 잘 이루어지지 않고 있는 상태이다.

일반적으로 NO는 cyclic GMP 농도를 증가시켜 최종적으로 세포내 칼슘농도를 조절함으로써 생리적 기능을 나타내기 때문에 전적으로 선세포내 칼슘농도 의존으로 일어나는 타액분비 역시 NO가 어떤 역할과 작용을 하리라 추측된다. 실제 최근 NO가 췌장에서 insulin 분비조절(Corbett et al, 1993; Tsuura et al, 1994), 뇌하수체에서의 성장 호르몬 분비조절(Kato, 1992), 신장에서 renin 분비조절(Vidal et al, 1988; Munter & Hackenthal, 1991)에 관여한다는 보고는 NO가 선세포에서 직접 타액분비 조절에 관여할 가능성이 있음을 시사한다. 또한 최근 NO가 췌장의 외분비선에서 칼슘유입을 촉진시킨다는 보고는(Gukovskaya & Pandol, 1994) 타액선에서 NO가 세포내 칼슘농도를 조절함으로써 타액분비 기전에 관여할 가능성을 더욱 높여준다 하겠다. 한편 타액분비는 주로 콜린성 신경기전에 의해 일어나지만 분비와 동반되는 선혈류 증가에는 콜린성 기전외에 비콜린성 기전도 작용하고 있음이 알려져 있다(Bloom & Edward, 1980; Lundberg et al, 1982). 즉 부교감신경 말단에서 acetylcholine(ACh)과 함께 유리되는 vasoactive intestinal peptide(VIP) (Lundberg, 1981b)와 kallikrein-kinin 계 등이 비콜린성 혈관확대 기전으로 제시된 바 있다(Barton et al, 1988; Ørstavik et al, 1978). 일반적으로 다른 혈관들에서 ACh, VIP, kinin 등과

같은 물질들이 직접 혈관이완을 일으키는 것이 아니라 혈관 내피세포로부터 내인성 산화질소를 유리시켜 평활근을 이완시킴이 알려져 있기 때문에 이들 물질에 의한 타액선 혈류조절에 내인성 산화질소가 관여할 가능성이 있다.

본 연구는 타액선 분비와 혈류조절에 내인성 산화질소의 관여여부와 그 정도를 알아보고자 본 연구를 수행하였다. 먼저 생체내에서 부교감신경 자극 또는 혈관 이완 물질 투여에 따른 선혈류 증가에 미치는 nitric oxide synthase 억제제인 N^w-nitro-L-arginine methyl ester(L-NAME)의 영향을 조사하였다. 생체의 실험으로는 적출 악하선 혈관에서 ACh 이완반응에 대한 soluble guanylate cyclase 억제제의 영향을 조사하는 한편 적출 악하선 절편에서 콜린성 자극에 의한 세포외 칼륨 방출에 미치는 L-NAME의 영향을 조사하였다.

실험 방법

실험재료 및 신경처리

실험재료는 체중 2.5~3.0 kg의 고양이를 암수 구별없이 사용하였다. 동물은 urethane(1 g/kg) 복강내에 주입하여 마취하였다. 마취된 동물은 고정대 위에 배와 위로 결박 고정된 후 기도 카놀라를 삽입하였고 경우에 따라 호흡기를 사용하여 호흡이 안정되게 하였다. 악하선을 지배하는 부교감신경인 교삭신경은 뇌교의 상타액핵(superior salivary nucleus)에서 기시하여 중간신경을 따라 주행하다가 삼차신경의 설신경과 합하여진다. 본 실험에서는 설신경이 악하선관과 교차하는 데에서 중추측 1 cm 윗쪽에서 절단하여 교삭-설신경(chorda-lingual preparation) 형태로 처리한 후 구형파 자극기(square-wave stimulator)로 3 V, 1 msec의 자극 여건하에서 자극빈도를 달리 하며 전기자극하였다.

악하선 혈류 및 타액분비의 기록

악하선 혈류를 기록하기 위해 경정맥의 악하선 정맥지만 남겨놓고 다른 가지를 차단한 후 경정맥에 polyethylene관을 삽입하여 유출된 혈류를 광전자 적수계(photoelectric drop-counter)에 낙하시켰다. 타액분비를 기록하기 위해서는 구강저부를 절개한 다음 악하선관내에 가는 polyethylene관을 삽입하여 유출된 타액을 광전자 적수계에 낙하시켰다. 이때에 혈액응고를 방지하기 위하여 전신혈액을 heparin(500 IU/kg)으로 처리하였으며 유출된 혈액은 peristaltic pump를 통해 다시 대퇴정맥내로 주입하였다.

악하선 절편에서 NO₂ 측정

적출한 악하선을 Staddie-Riggs Microtom으로 얇은 절편을 만든 후 5 ml의 영양액이 들어있는 플라스크에 넣고 95% 산소와 5% 탄산가스로 포화시키면서 37°C에서 30분간 평형상태를 유지하였다. 콜린성 약물에 의한 자극 또는 NO 합성효소 차단제 전처치하에서 콜린성 약물 자극을 가한 3분후 표본을 즉시 액체질소로 얼린 다음 -70°C에 보관하였다. 차가운 0.5 ml의 methanol 속에서 표본을 homogenize하여 4°C에서 18~20시간 방치한 다음, 10분간 10,000 g에서 원심분리하여 침전물은 단백정량(Bradfor법)에 사용하고 상층액은 300 μl를 취하여 Ignarro 등(1987)의 방법으로 NO의 대사산물인 NO₂ 농도를 측정하였다. NO₂ 농도 표준곡선은 NaNO₂를 사용하여 구하였다. 이때 사용한 영양액의 조성은 다음과 같다. NaCl 118, NaHCO₃ 25, KCl 4.7, MgCl₂ 1.13, NaH₂PO₄ 1.15, CaCl₂ 1.28, β-hydroxybutyric acid 5 mmol/L이었다.

적출 악하선 동맥의 장력 측정

떼어낸 악하선 동맥을 5 mm 길이로 2~4개의 환상표본을 만들고 동맥 표본의 한쪽 끝을 37°C의 organ bath 하단에 고정하고 반대쪽은 isometric force transducer (Grass FT 03)에 고정하였다. Bath 내 영양액은 95% O₂-5% CO₂ 혼합가스로 지속적으로 공급하여 pH를 7.4로 유지시켰다. 이때 사용한 영양액의 조성은 NaCl 112, KCl 5, NaHCO₃ 25, KH₂PO₄ 1, MgSO₄ 1.2, CaCl₂ 2.5, Glucose 11.5 mmol/L 이었다.

Bath에 매단 동맥환 표본에 2 g의 장력을 주어 1.5~2 시간 평형시키고 장력이 일정해지면 약물을 투여하여 장력 변동을 Polygraph(Grass 7 series) 상에 기록하였다.

유출 칼륨 이온 측정

악하선을 적출한 후 피막을 벗기고 0.5 mm 두께 2~3개의 절편을 만들어 생리 식염수로 2~3번 세척하였다. 절편을 2 ml의 영양액이 들어있는 삼각 플라스크에 넣어 37°C에 유지하면서 분당 100 cycle로 흔들었다. 플라스크 내 영양액은 95% O₂ 5% CO₂의 혼합가스로 포화시켜 pH를 7.4로 유지시키면서 약 40분 동안 기다려 평형상태가 되게 한 다음 본 실험을 시작하였다. 여러 약물의 전처치하에 콜린성 약물을 투여한 후 1, 3, 5, 7분 간격으로 플라스크 내의 영양액을 50 μl씩 채취하여 K⁺ 이온의 농도를 측정하였다. 이때 사용한 영양액의 조성은 NaCl 118 mmol/L, NaHCO₃, 25 mmol/L, KCl 4.7 mmol/L, MgCl₂, 1.13 mmol/L, NaH₂PO₄, 1.15 mmol/L, CaCl₂, 1.28 mmol/L, β-hydroxybutyric acid 5 mmol/L이었다.

사용된 약물 및 통계처리

사용된 약물은 atropine, bradykinin, carbachol, L-NAME, methylene blue, vasoactive intestinal peptide(이상 Sigma사) 이었다. 선혈류의 변동은 정상혈류량에 대한 변동된 혈류량을 백분율로 표시하였으며 타액분비는 분당 유출된 타액 방울을 세었다. 세포외로 방출된 K⁺ 이온의 변화는 기저치에 대한 변화량의 백분율로 표시하였다. 실험결과는 평균±표준오차로 표시하고 unpaired Student t-test에 따라 유의성을 검정하였다.

실험 결과

악하선 절편에서 Ach와 VIP에 의한 내인성 산화질소(NO)의 합성

타액선에서 내인성 산화질소가 실제 타액분비물질 및 선혈류 증가물질에 의해 합성되는지 알아보기 위해 악하선 절편에서 NO₂ 농도를 관찰하여 NO의 합성정도를 간접 관찰하였다. 약물을 처치하지 않은 대조군에 비해 acetylcholine(10⁻⁵ mol/L), VIP(10⁻⁵ mol/L) 처치군에서 현저한 내인성 산화질소의 합성정도가 증가하였으며, NO 합성효소(NOS) 억제제인 L-NAME(10⁻⁴ mol/L) 전처치군에서 NO 합성증가가 완전히 차단되었다(Fig. 1).

고삭신경 자극에 의한 악하선 혈류증가 및 타액분비에 미치는 Atropine과 L-NAME의 영향

악하선 혈류와 타액분비는 자극빈도 의존적으로 증가되었으며 10 Hz 이상에서부터 최대치를 보이기 시작했다. Atropine(1 mg/kg)의 대퇴 정맥내 전처치(10 min)로 고삭신경 자극에 의한 타액분비 효과는 자극빈도에 관계없이 완전히 차단되었지만 선혈류 증가 효과는 저빈도 자극(1, 2 Hz)에서 거의 차단 되었고 자극빈도를 증가함에 따라 감소한다. 고빈도 자극(10, 20 Hz)에서는 전혀 영향을 받지 않았다(Fig. 2).

NOS 억제제인 L-NAME를 처음 일시적으로(20 mg/kg) 설동맥을 통해 준 다음 지속적으로(100 mg/kg, 1 ml/min) 주입하였을 때, 고삭신경 자극에 의한 타액분비와 선혈류 증가는 자극빈도에 관계없이 현저히 감소되었다(Fig. 2).

ACh, VIP 및 BK에 의한 선혈류 증가 효과에 미치는 L-NAME의 영향

ACh(5 μg/kg), VIP(5 μg/kg), BK(5 μg/kg)의 설동맥 투여에 의해 악하선 혈류는 300% 이상 증가하였으며, 이들 물질들에 의한 선혈류 증가 효과는 L-NAME(100 mg/kg)

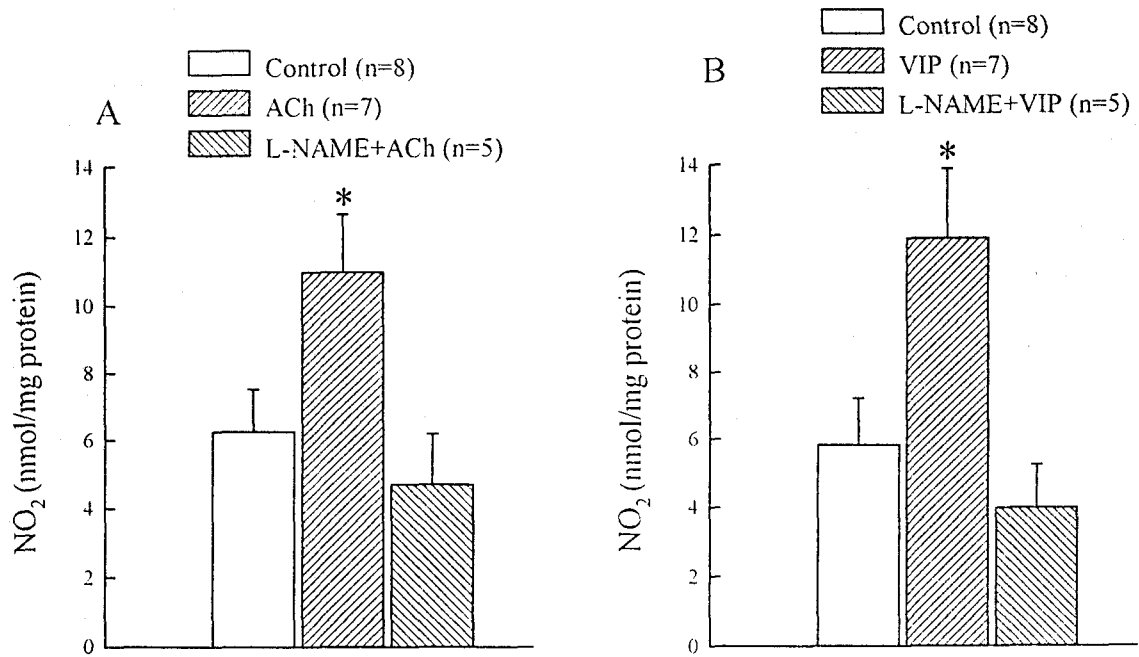


Fig. 1. NO₂ contents of submandibular slice in response to acetylcholine(A) or vasoactive intestinal polypeptide(B). L-NAME(10^{-4} mol/L) was treated 10 min prior to Ach(10^{-5} mol/L) or VIP(10^{-5} mol/L) stimulation. Values are means \pm SE. * $p < 0.05$, compared with control.

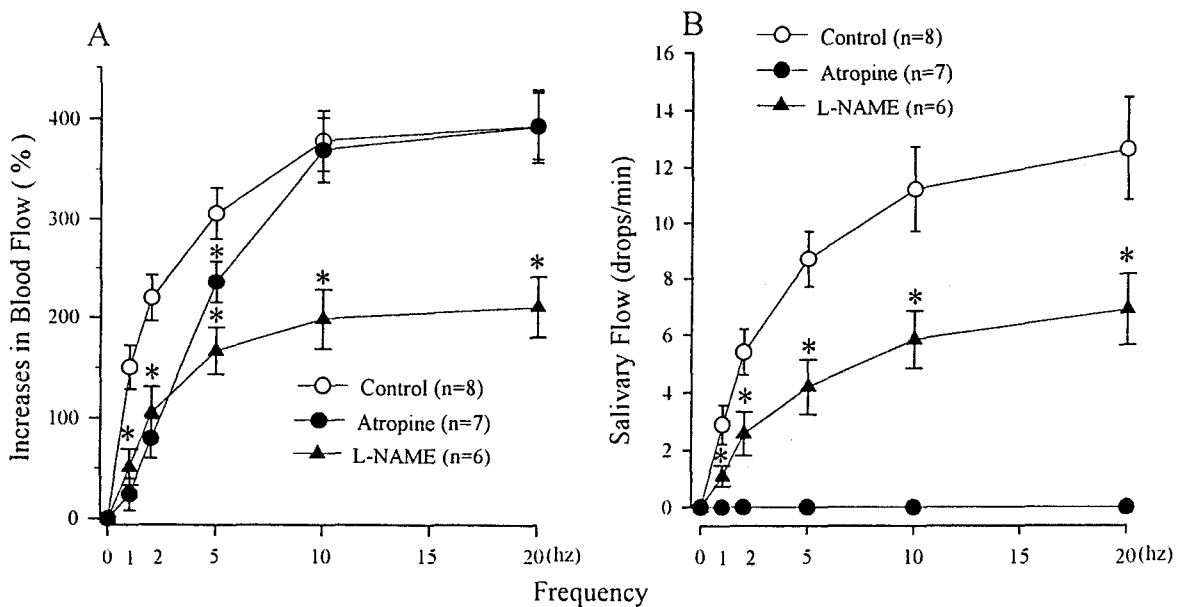


Fig. 2. Effects of atropine or L-NAME on submandibular blood flow(A) and salivary secretory responses(B) to stimulation of the chorda-lingual nerve(3 V, 1 msec, 0~20 Hz). Atropine(1 mg/kg) was injected into the femoral vein 10 minutes before nerve stimulation. L-NAME(100 mg/kg) was infused into lingual artery(1 ml/min for 10 min). Values are means \pm SEM. * $p < 0.05$, compared with control.

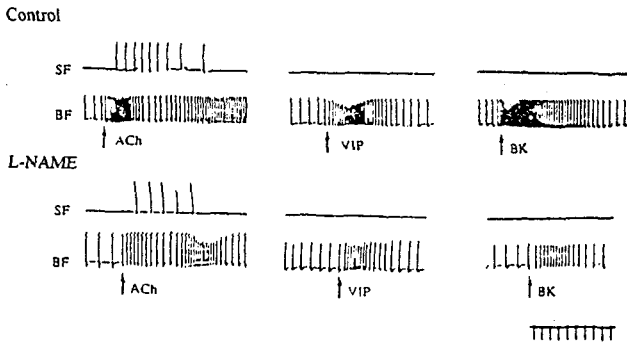


Fig. 3A. Representative tracing showing the effects of L-NAME(100 mg/kg) on submandibular vasodilatory and secretory responses to acetylcholine(Ach, 5 µg/kg), vasoactive intestinal peptide(VIP, 5 µg/kg) and bradykinin(BK, 5 µg/kg). MB, methylene blue; SF, salivary flow; BF, blood flow. Time maker in 5 sec intervals.

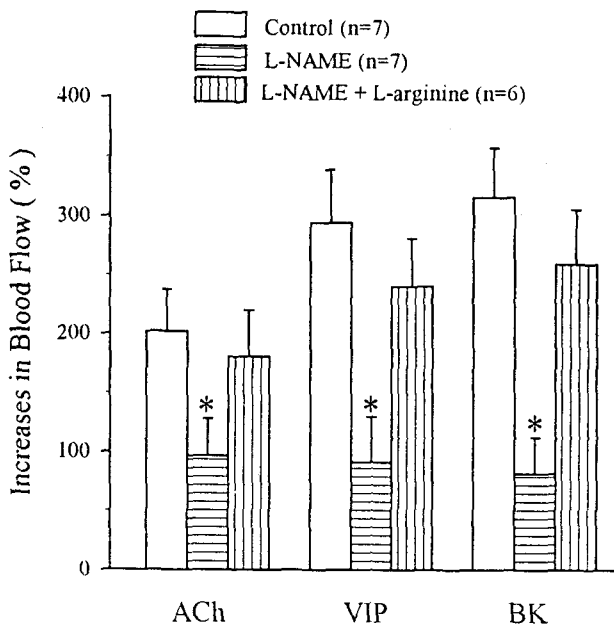


Fig. 3B. Effects L-NAME on submandibular vascular responses to acetylcholine(Ach), vasoactive intestinal peptide(VIP) and bradykinin(BK). Ach(5 µg/kg), VIP(5 µg/kg) and BK(5 µg/kg) were injected as a bolus(1 mL for 1 min) via lingual artery. L-NAME(100 mg/kg) or L-arginine(50 mg/kg) was treated as in Fig. 2. *p<0.05 compared with control.

에 의해 50% 정도 감소하였다. L-NAME에 의한 선혈류 억제효과는 NO donor인 L-arginine(50 mg/kg)의 재투여로 다시 회복되었다(Fig. 3A, 3B).

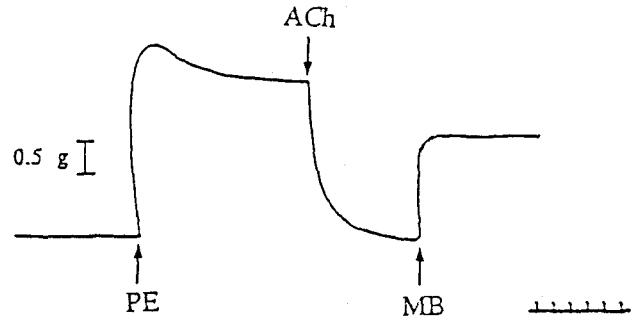


Fig. 4. Representative tracing showing the effect of methylene blue(MB, 10⁻⁴ mol/L) on acetylcholine(Ach, 10⁻⁷ mol/L) elicited vasodilation in the isolated submandibular artery precontracted with phenylephrine(PE, 10⁻⁵ mol/L). Time marker in 1 min intervals.

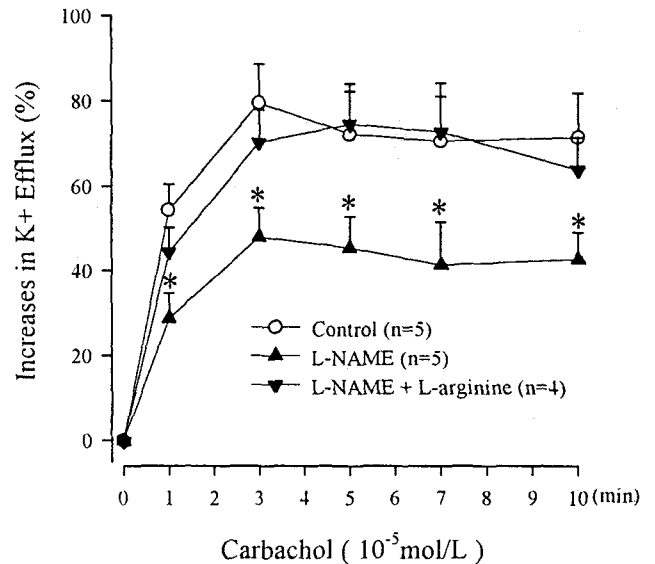


Fig. 5. Effects of L-NAME or L-NAME+L-Arginine on carbachol(10⁻⁵ mol/L)- induced K⁺ efflux in excised submandibular slices. L-NAME(10⁻⁵ mol/L) or L-NAME(10⁻⁵ mol/L) + L-arginine(10⁻⁵ mol/L) was treated 30 min before carbachol-stimulation. *p<0.05, compared with control.

악하선 적출 혈관표본에서 ACh에 의한 혈관이완 반응에 미치는 Methylene blue의 영향

악하선에서 혈관이완 물질들에 의한 선혈류 증가가 cyclic GMP 농도 증가를 매개로 하는지 알아보하고자 적출 악하선 동맥혈관의 ACh 확대반응에 미치는 soluble guanylate cyclase 억제제인 methylene blue 영향을 조사하였다. 혈관표본을 phenylephrine(10⁻⁵ mol/L)으로 수축시킨 뒤

ACh(10^{-7} mol/L)으로 최대 이완을 일으켰을 때 methylene blue(10^{-4} mol/L)에 의해 수축이 회복되었다(Fig. 4).

적출 약하선 절편에서 Carbachol에 의한 세포의 K^+ 유출에 미치는 L-NAME의 영향

부교감신경성 타액분비에 대한 L-NAME의 억제효과가 선혈류 감소에 따라 이차적으로 일어난 것인가 혹은 부분적으로 선세포에 직접 작용하는 기전도 있는지를 알아보고자 적출 약하선 절편의 칼륨유출에 대한 영향을 조사하였다. 적출 타액선 표본에서 carbachol에 의해 선세포외로 대량의 K^+ 방출이 일어났으며 3분에 최대에 이르렀고 그후 비교적 일정한 방출이 일어났다. Carbachol에 의해 선세포의 K^+ 방출 효과는 L-NAME(10^{-5} mol/L) 처치에 따라 현저히 감소되었다. 이때에 L-NAME에 대한 콜린성 칼륨 유출 억제는 NO donor인 L-arginine 투여로 회복되었다(Fig. 5).

고 찰

지금까지 NO에 대한 연구는 전기적으로 흥분성을 나타내는 중추 및 말초신경계, 전신혈관, 위장관, 방광, 비뇨생식계 등에서 이루어져 왔으며, 전기적 비흥분성 세포인 타액선에서는 NO의 역할과 작용기전은 확실히 밝혀지지 않고 있다. 본 실험에서 타액분비를 일으키는 acetylcholine과 선혈류 증가를 일으킨다고 알려진 VIP에 의해 약하선 절편에서 NO의 대사산물인 NO_2 농도가 증가되고 L-NAME에 의해 차단되는 결과는 타액분비를 일으키거나 선혈류 증가를 일으키는 물질들에 의해 산화질소가 타액선에서 직접 합성되어 어떤 역할을 수행함을 암시한다 하겠다.

본 실험에서 교감신경에 의한 타액분비는 atropine 전처치로 자극빈도에 관계없이 완전히 차단되었지만 선혈류 증가효과는 저빈도 자극에서만(1, 2, 5 Hz) 감소된 반면 고빈도에서는(10, 20 Hz) 전혀 영향을 받지 않았다. 이는 타액분비는 콜린성 기전에 의하고 혈류증가는 콜린성 뿐만 아니라 비콜린성 기전에 의해 일어나며 저빈도 자극은 콜린성, 고빈도 자극은 비콜린성 기전에 의해 선혈류 증가를 일으켰음을 시사한 것으로 앞선 연구자들의 견해를 뒷받침한다(Lundberg et al, 1981A). 비콜린성 확대기전으로 일찍이 kallikrein-kinin 계와 VIP가 제시된 바 있다(Ørstavik & Gautvik, 1977; Ørstavik, 1978; Lundberg et al, 1981B). 그러나 kinin을 불활성시키는 물질인 carboxypeptidase B나 bradykinin 길항제인 D-Arg-BK가 부교감신경성 혈관확대 효과를 차단하지 못하기 때문에

kallikrein-kinin계는 신경성 혈관확대에는 관여하지 않을 것으로 추측되고 있다(Barton et al, 1988). 부교감신경의 저빈도자극에 의한 타액선 혈관확대는 콜린성이고 고빈도 자극의 경우 비콜린성이라는 본 연구결과와는 달리, Edward와 Garret(1993)는 부교감성 혈관확대 효과가 전기 자극 빈도와 관계없이 atropine에 의해 차단되지 않았고, L-NAME에 의해서만 현저히 감소됨을 보고하였다. 뿐만 아니라 그들은 설동맥내 ACh 투여에 의한 선혈류증가 효과는 L-NAME에 의해 차단되지 않고 VIP에 의한 선혈류증가만 차단됨을 관찰하여 타액선에서 콜린성 혈관확대에는 EDRF(NO)가 관여하지 않고 비콜린성 기전(VIP)은 NO에 의해 매개된다고 제시하였다. 그러나 본 연구에서는 교감신경 저빈도자극 뿐만 아니라 설동맥내 ACh에 의한 선혈류 증가효과도 atropine과 L-NAME에 의해 모두 현저히 감소했으며, 고빈도 자극 또는 VIP와 bradykinin의 설동맥내 투여에 의한 선혈류 증가는 L-NAME에 의해서 차단되었다. 즉 저빈도 자극에 의한 혈관확대는 콜린성 기전이고 고빈도 자극에 의한 혈관확대는 비콜린성 기전으로도 일어나지만 양자의 경우에 모두 nitric oxide(NO) 계가 관여하는 것으로 추측된다. 또한 적출 약하선 혈관표본에서 ACh(10^{-7} mol/L)에 의해 이완을 일으켰을 때, soluble guanylate cyclase 억제제인 methylene blue에 의해 다시 역전되어 수축되었다. 이러한 결과를 종합하면 타액선에서 콜린성 혈관확대 기전에 역시 nitric oxide가 관여하며 일반적으로 알려진 NO의 작용기전이 soluble guanylate cyclase 활성을 통한 cyclic GMP 농도 증가를 통해 기능을 나타냄을 시사하였다. Edward와 Garret(1993) 실험의 경우 저빈도 교감자극에 의한 선혈류 증가가 atropine에 의해 차단되지 않았던 점은 전기자극 강도가 본 연구에서 사용한 3 V가 아닌 20 V의 높은 자극을 사용하였기 때문에 부교감 신경 말단에서 콜린성 신경전달물질이 아닌 비콜린성 물질이 유리된 결과가 아닌가 추측된다.

한편 본 실험중 생체내 실험에서 L-NAME는 교감신경 자극에 의한 선혈류 증가 효과를 감소시켰을 뿐만 아니라 타액분비도 억제시켰다. 따라서 L-NAME에 의한 타액분비 억제가 혈류감소에 기인한 것인지 아니면 선세포에 대한 직접 억제작용에 기인해 일어났는지 알아보려 하였다. 전해질 및 수분을 함유하는 타액분비 기전에서 첫 번째 중요한 단계는 세포내 칼슘에 의한 세포의 K^+ 유출임이 밝혀져 있으므로(Petersen et al, 1988), 먼저 선세포 절편에서 carbachol 투여에 의한 세포외 K^+ 유출에 미치는 L-NAME의 영향을 조사하였다. Carbachol에 의한 선세포의 K^+ 방출은 L-NAME 전처치에 의해서는 지속적으로 감소되었고 L-NAME와 L-arginine 전체에 의해서는

영향을 받지 않았다. 이러한 결과는 nitric oxide가 선세포에 직접 작용해서 타액분비를 억제시켰을 가능성을 암시한다. 즉 nitric oxide는 타액선 혈관조절에 관여할 뿐 아니라 선분비조절에 직접 관여할 가능성이 있다. Nitric oxide가 췌장 선세포에서 칼슘 유입을 일으킨다는 최근의 보고(Gukovskaya & Pandol, 1994)는 그러한 가능성을 더욱 뒷받침한다 할 수 있다.

또한 nitric oxide는 혈관내피뿐만 아니라 신경말단에서도 직접 유리되므로(Meller & Gebhart, 1993; Busse et al, 1991) 타액선에서는 혈관내피에서 유리되는 것인지 혹은 신경말단에서 분비되는 것인가에 대해서는 본 연구에서는 구별될 수 없기 때문에 앞으로 더 연구하여야 될 문제라 생각된다.

본 연구결과를 요약하면 고양이 악하선에서 부교감신경 자극에 의해 내인성 산화질소가 합성되며 이산화질소가 콜린성 타액분비 및 선혈류 증가와 비콜린성 선혈류 증가기전에 관여하고 있음을 조절함을 시사하였다.

감사의 글

본 연구는 1996년 교육부 기초의학 연구비 지원으로 이루어졌음.

참 고 문 헌

Azuma H, Ishikawa M, Sekizaki S. Endothelium-dependent inhibition of platelet aggregation. *Br J Pharmacol* 88: 411-415, 1986

Barton S, Karpinski E, Schachter M. The effects of a bradykinin antagonist on vasodilator responses with particular reference to the submandibular gland of the cat. *Experientia* 44(10): 897-8, 1988

Bloom SR, Edwards AV. Vasoactive intestinal peptide in relation to atropine resistant vasodilatation in the submaxillary gland of the cat. *J Physiol* 300: 4-53, 1980

Bult H, Boeckxstaens GE, Pelckmans PA, Jordaens FH, Van Maerckey YM, Herman AG. Nitric oxide as an inhibitory nonadrenergic noncholinergic neurotransmitter. *Nature (Lond.)* 345: 346-347, 1990

Busse R, Lamontagne D. Endothelium-derived bradykinin is responsible for the increase in calcium produced by angiotensin-converting enzyme inhibitors in human endothelial cells. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 344: 126-129, 1991

Busse R, Lückhoff A, Mülsch A. Cellular mechanisms

controlling EDRF/NO formation in endothelial cells, in Drexler H, Zeiher AM, Bassenge E, Just H(eds): *Endothelial Mechanisms of Vasomotor Control*. pp7-16, Steinkopff-Verlag, Darmstadt, Germany, 1991

Cherry PD, Furchgott RF, Zawadzki JV, Jothianandan D. The role of endothelial cells in the relaxation of isolated arteries by bradykinin. *Proc Natl Acad Sci USA* 79: 2105-2110, 1982

Corbett JA, Sweetland MA, Lancaster JR Jr, McDaniel ML. A 1-hour pulse with IL-1 beta induces formation of nitric oxide and inhibits insulin secretion by rat islets of Langerhans: evidence for a tyrosine kinase signaling mechanism. *FASEB J* 7: 369-374, 1993

Edwards AV, Garrett JR. Nitric oxide-related vasodilator responses to parasympathetic stimulation of the submandibular gland in the cat. *J Physiol* 464: 379-392, 1993

Edwards G, Weston AH. The pharmacology of ATP-sensitive potassium channels. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 33: 597-637, 1993

Furchgott RF, Zawadzki JV. The obligatory role of endothelial cells on the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature* 228: 376-6, 1980

Furlong B, Henderson AH, Lewis MJ, Smith JA. Endothelium-derived relaxing factor inhibits in vitro platelet aggregation. *Br J Pharmacol* 90: 687-692, 1987

Förstermann U, Pollock JS, Schmidt HH, Heller M, Muread F: Calmodulin-dependent endothelium-derived relaxing factor/nitric oxide synthase activity is present in the particulate and cytosolic fractions of bovine aortic endothelial cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 88: 1788-1792, 1991

Garthwaite J: Glutamate nitric oxide and cell-cell signalling in the nervous system. *Trends Neurosci* 14: 60-67, 1991

Griffith TM, Edwards DH, Lewis MJ, Newby AC, Henderson AH. The nature of endothelium-derived vascular relaxant factor. *Nature* 308: 645-7, 1984

Gukovskaya A, Pandol S. Nitric oxide production regulates cGMP formation and calcium influx in pancreatic acinar cells. *Am J Physiol* 266: G350-G356, 1994

Ignarro LJ, Buga GM, Wood KS, Byrns RE, Chaudhuri G. Endothelium-derived relaxing factor produced and released from artery and vein is nitric oxide. *Proc Natl Acad Sci USA* 84: 9265-9269, 1987

Kato M. Involvement of nitric oxide in growth hormone (GH)-releasing hormone induced GH secretion in rat pituitary cells. *Endocrinol* 131: 2133-2138, 1992

Lundberg JM, Anggard A, Fahrenkrug J. Complementary role of vasoactive intestinal polypeptide (VIP) and acetylcholine for cat submandibular gland blood flow and secretion. *Acta*

- Physiol Scand* 113: 329–336, 1981A
- Lundberg JM, Fahrenkrug J, Brimijoin S. Characteristics of the axonal transport of vasoactive intestinal polypeptide (VIP) in nerves of the cat. *Acta Physiol Scand* 112: 427–436, 1981B
- Lundberg JM. Vasoactive intestinal polypeptide enhances muscarinic ligand binding in cat submandibular salivary gland. *Nature* 295: 147–149, 1982
- Meller ST, Gebhart GF. Nitric oxide (NO) and nociceptive processing in the spinal cord. *Pain* 52: 127–136, 1993
- Munter K, Hackenthal E. The participation of the endothelium in the control of renin release. *J Hypertension* 9(suppl 6), S236–S237, 1991
- Palmer RMJ, Ferrige AG, Moncada S. Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium derived relaxing factor. *Nature* 327: 524–526, 1987
- Petersen OH, Gallacher DV. Electrophysiology of pancreatic and salivary acinar cells. *Ann Rev Physiol* 50: 65–80, 1988
- Tsuura Y, Ishida H, Hayashi S, Sakamoto K, Horie M, Seino Y. Nitric oxide opens ATP-sensitive K channels through suppression of phosphofructokinase activity and inhibits glucose-induced insulin release in pancreatic β cells. *J Gen Physiol* 104: 1079–1099, 1994
- Vidal MJ, Romero JC, Vanhoutte PM. Endothelium-derived relaxing factors inhibit renin release. *Eur J Pharmacol* 149: 401–402, 1988
- Ørstavik TB, Gautvik KM. Regulation of salivary kallikrein secretion in the rat submandibular gland. *Acta Physiol Scand* 100: 33–44, 1977
- Ørstavik TB. The distribution and secretion of kallikrein in some exocrine organs of the rat. *Acta Physiol Scand* 104: 431–442, 1978
-