

N-Nitrosodimethylamine이 흰쥐 설선의 Glycoconjugates에 미치는 영향에 대한 Prelectin 조직화학

조은복[†] · 조기진

부산대학교 사범대학 생물교육과

Prelectin Histochemistry for Effects of N-Nitrosodimethylamine on Glycoconjugates in the Rat Lingual Glands

Un Bock Jo and Gi Jin Jo

Department of Biology Education, Pusan National University, Pusan 609-735, Korea

Abstract

The effect of N-Nitrosodimethylamine(NDMA) on the glycoconjugates of rat lingual salivary gland was examined by prelectin histochemical methods. Sprague-Dawley rats weighing about 250-300g were divided into control and experimental groups. Each rat of experimental groups was administrated NDMA(17mg/kg) orally and sacrificed in 3, 6, 12, 24, 48, 72, 96 and 120 hours after NDMA administration. The regional differences and change of glycoconjugates were elucidated by prelectin histochemical methods, such as periodic acid Schiff's(PAS) reaction, alcian blue (AB) pH 2.5, AB pH 0.4, AB pH 2.5-PAS, aldehyde fuchsin(AF) pH 1.7-AB pH 2.5 and high iron diamine(HID)-AB pH 2.5 staining.

The major morphological changes in the von Ebner's gland of NDMA administrated groups were withering and destruction of serous acini, diminution and disappearance of cytoplasmic granules and vacuolation in cytoplasm of serous cells, and mucinous changes of duct epithelial cells. These changes were noted in NDMA administrated groups for 12 to 72 hours. In the lingual mucous gland of NDMA administrated groups, the major morphological changes were enlargement, fusion and destruction of mucous acini, loss of cytoplasmic granules and vacuolated generation in cytoplasm of mucous cells, and mucinous change of duct epithelial cells. These changes were severe in NDMA administrated groups for 12 to 72 hours.

In NDMA administrated groups of lingual von Ebner's gland for 12 and 72 hours, the neutral glycoconjugates become diminished remarkably compared to the control group. The decreased amount of neutral glycoconjugates tended to be gradually recovered from 96 hours group. The acidic glycoconjugates which were not detected in control group were found in a few serous cells of these gland of NDMA administrated groups for 6 to 48 hours and 120 hours.

The remarkable decrease of neutral and acidic glycoconjugates was observed in the lingual mucous glands 3, 24 and 48 hours after NDMA administration, and the striking decrease of acidic glycoconjugates was found in 72

[†] Corresponding author

hours groups. Among acidic glycoconjugates, sulfated glycoconjugates tended to decrease in NDMA administrated groups for 72 hours, while sialic glycoconjugates were increased in NDMA administrated groups for 3, 12 and 48 hours.

Key words : Rat lingual glands, Glycoconjugates, Prelectin histochemistry

서 론

발암성, 돌연변이원 및 최기인자로 작용하는 것으로 알려져 있는 N-Nitrosocompounds는^{1,2,3,4)} 널리 분포하고 생물학적으로 영향을 미치는 것이 약 300여종으로 여기에 대한 많은 연구가 이루어져 오고 있다.

아질산염이 2급 또는 3급 아민류와 반응하여 생성되며 식품속에서 쉽게 검출되는 N-Nitrosamine은 dialkyl nitrosamine인 dimethylnitrosamine과 diethylnitrosamine이다^{5, 6)}. 식품속의 아질산염은 위의 산성환경하에서 아민류와 반응하여 nitrosamine를 생성시키며, 중성과 알칼리성에서도 장박테리아 같은 적당한 촉매가 있으면 니트로소화반응이 일어난다⁷⁾, 니트로소화반응을 촉매시키는 물질로는 장내세균외에 설탕, 포도당 및 에탄올 같은 알콜성 OH기를 가지는 물질과 chloral, formaldehyde 같은 aldehyde류를 들 수 있다⁸⁾. 많은 식품속에 존재하는 질산염과 아질산염은 nitrosamine의 전구물질로 그 농도가 높은 음료수와 식품의 섭취는 식도암, 위암, 간암 등의 발생률과 밀접한 관계가 있다⁹⁾.

Nitrosamine은 제조제와 관련된 토양¹⁰⁾, 시판용 제조제¹¹⁾, 식료품¹²⁾, 음료수와 담배¹³⁾, 화장품, 로션과 샴푸¹⁴⁾ 그리고 타액¹⁵⁾에도 검출된다.

Nitrosamine에 대한 최근 연구로는 nitrosamine의 생성 기작의 규명에 대한 연구^{16,17)}, 생체내 생성된 nitrosamine 활성이 증진되는 요인에 대한 연구¹⁸⁾ 생체내 nitrosamine의 생성억제에 대한 연구^{19,20)}, 간에서 nitrosamine 대사활동에 관한 연구²¹⁾, nitrosamine의 전구물질인 아질산염을 분해시키는 물질에 대한 연구²²⁾, 유기토양에서 제조제와 관련된 nitrosamine의 분해능에 대한 연구¹⁰⁾와 위장관에서 장내 박테리아에 의한 nitrosamine의 분해능에 대한 연구⁷⁾ 등이 있으나 혀의 점막에 타액을 분비하여 표면을 습윤, 윤활케하며 점막을 보호하는 기능을 하는 설 점액선의 glycoconjugates와 타액을 청소시켜 그 기능을 도와주는 역할을

하는 설 von Ebner선의 glycoconjugates에 발암물질인 nitrosamine이 미치는 영향에 대해 규명한 연구는 없다.

Glycoconjugates은 소화관 점막표면에 대한 윤활제로서의 물리적 작용외에 각종 화학물질, 병독소, 기계적인 자극 및 각종 소화효소의 침해로부터 점막을 보호하는 역할을 하며 세포막 근접영역의 환경조성에도 영향을 미친다^{23,24, 25)}.

각종 독성물질이 동물체내에 들어왔을때 내적 환경인자로 작용하는 glycoconjugates의 macromolecules에 대한 국제 특성의 변화는 prelectin법으로 많이 연구되어 왔으나 발암물질인 N-Nitrosodimethylamine(NDMA) 투여시 일어나는 glycoconjugates에 대한 연구로는 흰쥐 십이지장 및 공장에 대한 연구²⁶⁾ 밖에 없다.

최근 조사에 의하면 서구²⁷⁾ 및 중국²⁸⁾의 젊은 층에 설암이 증가하는 것은 흡연과 밀접한 관계가 있다고 하였는데 담배연기속의 nitrosamine과 복합당질 상호간에 밀접한 관계가 있는 것으로 생각되어진다. 담배연기속이나 식품속에서 검출되며 간암을 유발시키는 NDMA가 흰쥐 설 점액선과 von Ebner선의 분비물로 타액에 분비되는 복합당질은 병원성 미생물의 일차적 장벽으로 그 중요성이 있는데²⁹⁾ 이 복합당질에 어떤 영향을 미칠 것으로 사료되어 prelectin법으로는 glycoconjugates의 macromolecule인 점액질의 성상 변화를 연구하였다.

연구재료 및 방법

실험동물은 시판용 펠렛사료(제일사료)로 자유급식법으로 사육한 Sprague-Dawley계의 흰쥐를(체중 250-300 gm) 사용하여 대조군과 실험군으로 나누었다. Nitrosocompounds은 NDMA를 사용하였다. 대조군은 공복상태의 흰쥐 5마리를 사용하였으며 실험군은 NDMA 액체를 LD₅₀의 1/2양(17mg/kg)을 흰쥐에 경구적으로 투여한 후 3시간군, 6시간군, 12시간군, 24시간군, 48시간군, 72시간군,

96시간군 및 120시간군으로 나누고 각 군에 5마리씩 배정하였다. 흰쥐를 ether 마취시켜 설전체를 절취하여 시상 절단하여 10% 중성 formalin용액에 24시간 고정한 다음 수세와 각급 alcohol에 탈수과정을 거쳐 6 μ m의 두께로 연속 파라핀 절편을 만들었다.

각 장기의 조직학적 구조를 관찰하기 위하여 hematoxylin-eosin(H-E)염색을 하였다. Glycoconjugates의 macromolecules은 prelectin법으로 검색하였다. 설점액선과 von Ebner선의 neutral glycoconjugates(중성점액질)을 검색하기 위해서는 PAS 반응법³⁰⁾과 타액 소화 후 PAS 반응법³¹⁾으로 염색하였다. Acidic glycoconjugates(산성점액질)를 검색하기 위해서는 AB pH2.5 염색법³²⁾을 사용하였고, acidic glycoconjugates와 neutral glycoconjugates의 조성을 검색하기 위해서는 AB pH 2.5-PAS 염색법³³⁾을, acidic glycoconjugates 중 sulfated glycoconjugates(sulfomucin)와 nonsulfated glycoconjugates(nonsulfomucin)를 검색하기 위해서는 AB pH 0.4 염색법³³⁾, HID-AB pH 2.5법³⁴⁾과 AF pH 1.7-AB pH 2.5 염색법³¹⁾을 사용하였다.

조직화학적 검색 판정기준은 청색은 B(blue), 적색은 R(red), 자색은 P(purple), 청자색은 BP(bluish purple), 적자색은 RP(reddish purple)로 표시하였고 염색성의 등급은 염색된 정도에 따라 염색성이 없는 경우 0, 혼탁적인 염색성은 \pm , 약한 염색성은 1, 중등도 염색성은 2, 강한 염색성은 3, 그리고 매우 강한 염색성은 4로 하여 6등급으로 나누어 표시하였다.

결 과

1. 대조군 및 NDMA 투여군 흰쥐설선의 조직학적 소견

1) 설 von Ebner선

대조군의 설 von Ebner선은 장액선포들로 된 순수 장액선이었으며 설의 유곽유두아래 결합조직내에 넓게 무리를 지어 나타났다.

장액선포들은 추체형 장액세포들로 되어 있었고 장액세포의 세포기저부에 농염되는 구형의 핵이 뚜렷하고 핵상부의 세포질에는 H-E 염색에 산호성을 띠는 분비과립들로 충만되어 있었다. 장액선포들사이에 도관들이 관찰되었으며 단층입방상피로 덮인 도관이 설배면에 개구하고 있었다(Fig. 1a).

NDMA 투여군의 설 von Ebner선에서 일어나는 형태적인 주된 변화에는 장액선포의 위축, 장액선포의 파괴, 장액세포의 세포질과립의 감소 및 소실, 장액세포의 세포질의 공포 변성 및 도관의 점액화이었다. 특히 위축된 장액선포는 NDMA 투여후 6시간군에서 현저하였으며 장액선포세포 세포질의 과립감소는 NDMA 투여 12시간군, 48시간군에서 현저하였다. 도관의 증식은 NDMA 투여 12시간군, 48시간군 및 96시간군에서 현저하였으며, 장액선포의 파괴 및 단일 장액세포의 출현은 ND 투여후 24시간 및 72시간군에서 많이 나타났으며, 세포질의 공포변성은 ND 투여후 72시간군에서 많이 관찰되었고 도관의 점액화는 ND 투여후 48시간군에서 현저하였다(Fig. 1b).

NDMA 투여후 96시간군 이후에 대조군으로 회복되는 경향을 나타내었다(Fig. 1c).

2) 설 점액선

대조군의 설 점액선은 설근부의 설배면 결합조직에 무리를 지어 널리 분포하였으며 점액선포는 변형된 원추형 또는 추체형이었으며 점액세포의 기저부에 농염되는 납작한 핵이 있으며 세포질 점액소원과립은 H-E 염색에 염색되지 않고 밝게 나타났다. 크고 작은 점액선포들사이에 선강이 없는 약간의 미성숙 점액선포들이 관찰되었으며 잘 발달된 도관들이 설배면에 개구하고 있었다(Fig. 3a).

NDMA 투여후 3시간군과 6시간군에서 설점액선의 세포질이 파괴되고 선강전체에 걸쳐 퍼진 선포가 많이 나타났으며 선포가 확장파괴된 점액선포도 약간 관찰되었다.

NDMA 투여 후 12시간군 및 24시간군에서 점액선포들 중에 확장, 융합된 점액선포가 관찰되었으며 심하게 파괴된 선포도 관찰되었다. 점액세포의 핵상부 세포질에 크고 작은 공포들이 많이 나타났으며 확장된 선포의 내강에는 망상분비물이 차있었다. 도관 상피세포들중에 점액화가 많이 나타났다. NDMA 투여후 48시간군에서 성숙점액선포들이 많이 관찰되었으며 선강이 확장되고 점액선포들이 융합된 큰 선포도 관찰되었다. 또한 점액선포가 거의 완전히 파괴된 선포도 관찰되었으며 도관상피의 점액화가 NDMA 투여후 12시간군 및 48시간군 보다 더 뚜렷하였다. 미성숙선포도 관찰되었다.

NDMA 투여후 72시간군에서 크기가 작은 점액선포가 많이 증식되었으며 미성숙 점액선포들과 파괴된 점액선포들이 관찰되었으며 특히, 내강이 넓어진 점액선포가 많이

Table 1. Prelectin histochemistry of glycoconjugates in rat lingual mucous gland after administration of NDMA

Stains	Gland	N	Hours after administration								
			3	6	12	24	48	72	96	120	
PAS	MAC	3R>4R	2-3R>1R	2-3R>1R	2-3R>1R	2-3R>1R, 4R	3R>4R, ±R	2-3R	3R>±1R	3R>±1R	3R>4R
	SPM	3R	0-1R	0-1R	2R>1R	±1R	±1R	±3R	0, 2-3R	0, 2-3R	0, ±4R
	IMC	4R>3R	3R	3R	3-4R>2R	3-4R	3-4R	2-3R>4R	3-4R	3-4R	3-4R
	DC	±R	±2R	±2R	3R>0	3R>0	3R	±1R	±1R	±2R	2-4R
	SFDL	3R	0-1R	0-1R	±1R	±1R	±1R	±1R	±1R	±2-3R	±3R
AB pH2.5	MAC	3-4B	2-3B>±1B	2-3B>±1B	3B>2B, 4B, ±B	2-3B>1B	2-3B>1B	1-2B>±B	3B>±2B	3-4B	
	SPM	3B	0-1B	0-1B	0-1-3B	±1B	1B	±2B	0, ±2B	0, ±3B	
	IMC	4B>3B	2-3B>4B	2-3B>4B	4B>2B, ±B	3B>1-2B, 4B	2-3B>4B	1-3B>4B	3B	3-4B	
	DC	0	0>1-2B	0>1-2B	2-3B	0>±2B	2B>0, ±B	0, ±B	0, ±2B	0>±	
	SFDL	1-3B	0	0	2B	±1B	1-2B	0, ±B	2B	3B	
AB pH0.4	MAC	3-4B	2-3B>±1B	2-3B>±1B	2-3B>±B, 0	2-3B>±1B	2-3B>±1B	1-2B>±B, 3B	3B>0, ±2B	3-4B>2B	
	SPM	3B	0-1B	0-1B	±1B	±1B	±1B	±2B	0, ±2B	0, ±3B	
	IMC	3-4B	2-3B>4B	2-3B>4B	2-4B>0	2-3B>4B, 0	2-3B>±1B	2-3B>±1B	3B	3-4B>2B	
	DC	0	0>1-2B	0>1-2B	0, 2-3B	0, ±B>2-3B	2B>0, ±B	0, ±B	±1B	0>±B	
	SFDL	1-3B	0	0	1-3B	±B	±2B	0, ±B	2B	±2B	
AB pH2.5 -PAS	MAC	4B>4P>3RP	4B>4P, ±BP, 1BP, 1-2P	4B>4P, ±BP, 1BP, 1-2P	2-3P, 2-3BP>3R, 3RP, 4P	2-3P, 2BP>3RP, 3R	2-3P, 2BP, 2BP>3R, 4P	2-3P>2BP, 2-3B>3R, 3RP	3-4BP, 4P>3R, 3RP	4P, 4BP>3R	
	SPM	3BP	±BP	±BP	±2BP, ±2P	±2BP	±1B, 1BP, 1P	±1P, ±BP	2-3BP	0, ±3BP	
	IMC	4B>4P>3R, 3RP	4B>4P>3P	4B>4P>3P	4P>2-3P, 3R	3-4P>2-3BP, 3R	3-4P>2BP, 2RP, 3R	3-4P>2-3BP, ±P>2-3RP	4P>2-3P>3R	2-4P	
	DC	R	0>4BP, 4P	0>4BP, 4P	0>3P, 3BP, 3RP	3R>3P, 0	3P, 3BP>2BP, 2P	±2BP	±3R>3RP, 3P	±3R>3RP, 3P	
	SFDL	3R	3RP, 3P	3RP, 3P	±1BP, 1P	±3P	2RP, 3RP, 3P	1-2BP	1-2BP	0, ±3P	
AF pH1.7 -AB pH2.5	MAC	3-4P>2-3BP, 3B	2-3P, 1-2B>2BP	2-3P, 1-2B>2BP	1-2P>1-2B, 2BP	1-3P>2BP, 1-3B	2-3P>1-3B, ±1BP	1-2P>±2B, 1-2BP, 3P	3P, 3B>3BP, ±P	3P>4P, 2BP, 2B	
	SPM	2P>2BP	0-1P, 1BP	0-1P, 1BP	±2P>±2B	±2P	±2P>±1BP	±2P>±2BP	0, ±2P	±2P	
	IMC	3P>2-3BP, 2B	2-3P>1-3B, 1BP	2-3P>1-3B, 1BP	2-3P>1-2B	2-3P>3BP, 3-4B	2-4P>2-3BP, 2-3B	2-3P>±1P, 1B, 2BP	3-4P>3B, 3BP	3P>4P>3-4BP, 3B	
	DC	0	0>2-3P, ±1BP	0>2-3P, ±1BP	0, 2-3P	2-3P>2BP, 0	2-3P>1-2B	0>±P	±P	0>±P, ±BP	
	SFDL	3BP	0-1P, 1BP	0-1P, 1BP	1-3BP	0, ±P	±2P>±2BP	0, ±P	±2P	±1P	
HID -AB pH2.5	MAC	2-3N>2-3B, 2BN	1-2N>3N, 1-2B	1-2N>3N, 1-2B	2N, 2B>2BN, 3N	1-2N>2BN, 2B	1-3N, 1-2B, 1NB, 1BN	1-2N>1-2B, 3N, 1BN	2-3N, 2-3B>3NB, 3BN	2-3N>2-3B>3NB, 3BN	
	SPM	2N>2NB	±1N, ±1B	±1N, ±1B	±1N>±1B	1-2N	±2N>1NB	0, ±1N>±1NB	0, ±1N, ±1NB	±3N	
	IMC	3N>3BN, 3B	1-2N>1-2B	1-2N>1-2B	2-3N>2B, 2BN	2-3N>2BN, 2B	2-3N>2BN, 2B	1-2N>1-2B, 3N, 1-2BN	3N>3BN, 3BN	3N>3BN, 3B	
	DC	0	0>1-2N, ±NB	0>1-2N, ±NB	0>2N, 2B	1-2N>1BN, 1B, 0	±2N>±BN, 1BN	0, ±1N	±1N	0>±1N	
	SFDL	1-3NB	0-1N, 1NB	0-1N, 1NB	0-1N	±1N	±1N	0	±2N	±2N, 2NB	

Degrees of staining : 4, very intense ; 3, intense ; 2, moderate ; 1, weak ; ±, trace ; 0, absent ; >, most marked.
 Abbreviations : AB, alcian blue ; PAS, periodic acid schiff ; AF, aldehyde fuchsin ; HID, high iron diamine ; MAC, mucous acinar cells ; SPM, secretory products of mucous acini ; IMC, immature mucous cells ; DC, duct cells ; SPDL, secretory products of duct lumen ; B, blue ; R, red ; BP, bluish purple ; RP, reddish purple ; P, purple ; N, black ; NB, black to blue ; BN, blue to black.

신
 리우
 부, 김기진

Table 2. Prelectin histochemistry of glycoconjugates in rat lingual von Ebner's gland after administration of NDMA

Stains	Gland	N	Hours after administration							
			3	6	12	24	48	72	96	120
PAS	SAC	3-4R	4R>+-3R	4R>+R-3R	3R>2R	3R	3-4R>+-1R	3R>+2R	3-4R>2R	4R
	ISC	3-4R	3R	2R	2R	3R	3R>+-1R	1-2R>+R	3R	3-4R
	DC	0+R	+1R	2R	1R	0>3R	+R	+2R	2-3R	2-3R
	SPDL	2R	2-3R	2-3R>0	3R	3R	0,+R,3R	2-3R	4R	4R
AB pH2.5	SAC	0	0	0>+-2B	0	0>+B	0>+-1B	0	0	0>+2B
	ISC	0	0	0	0>+B	0	0	0	0	0
	DC	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	SPDL	0	0	0>+-1B	0	0	0	0	0	0
AB pH0.4	SAC	0	0	0>+-2B	0	0>+-1B	0	0	0	0>+-1B
	ISC	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	DC	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	SPDL	0	0	0>+B	0	0	0	0	0	0
AB pH2.5 -PAS	SAC	3-4R	3-4R>+2R	3-4R>3RP,3P,1R	3R>+-2R>3P	3R>2R,+R,4R>3RP	3R>+-1R	2-3R>+R	3R>2R	4R>4RP
	ISC	3-4R	2R	3R	2-3R	3R	3R>+R	2-3R>+R	3R	3-4R
	DC	0+R	1-2R	2-3R	0>3RP	+1R	0>3R	0,+R	+1R	2-3R
	SPDL	2R	2R	2-3R	3R	3R	3R	0	3R	4R
AF pH1.7 -AB pH2.5	SAC	0	0	0>+2P,+1B	0>+P	0>+B	0>+-1P,+B	0	0	0>+-2P>+B
	ISC	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	DC	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	SPDL	0	0	0>1P	0	0	0	0	0	0
HID -AB pH2.5	SAC	0	0	0>+-1N	0>+-1N	0>+B,+N	0>+N	0>+-1N	0	0,+N>1N
	ISC	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	DC	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	SPDL	0	0	0>+N	0	0	0	0	0	0

Abbreviations : SAC, serous acinar cells ; ISC, immature serous cells. Others are the same as in the Table 1.

나타났고 내강이 크게 확장되고 융합된 점액선포도 관찰되었다. 도관상피의 점액화도 나타났다(Fig. 3b). NDMA 투여후 96시간군 및 120시간군에서는 대부분이 성숙형 점액선포도로 되어 있어 정상으로 회복되는 경향을 나타내었다. 내강이 확장된 선포나 융합된 선포들이 나타났으나 현저하지 않았으며 혈관의 증식도 관찰되었고 도관상피와는 뚜렷하지 않았다(Fig. 3c).

2. 대조군 및 NDMA 투여군의 흰쥐 설선의 Glycoconjugates의 prelectin의 조직화학

대조군과 NDMA 투여군의 설 von Ebner선과 설 점액선의 glycoconjugates에 대한 prelectin법에 의한 염색성은 표 1 및 2에서 보는 바와 같다.

1) 설 von Ebner선

대조군의 설 von Ebner선 장액선포는 PAS 및 AB pH 2.5-PAS염색에 강한 적색 내지 고도의 강한 적색으로 염색되었으나 그의 염색들에는 염색성이 없어 상당량 내지 다량의 neutral glycoconjugates만을 함유하고 있었다(Fig. 1 a).

NDMA 투여군의 설 von Ebner선의 glycoconjugates의 양과 성상이 대조군에 비해 변화를 나타내었으며 neutral glycoconjugates는 NDMA 투여군에서 대조군에 비해 감소되는 경향을 나타내어, NDMA 투여후 12시간군과 72시간군에서 현저히 감소하였으며(Fig. 1b) NDMA 투여후 96시간군 이후에 회복되는 경향을 나타내었다(Fig. 1c). 대조군에서 나타나지 않던 acidic glycoconjugates가 미량 내지 소량 분비되는 약간의 장액세포들이 NDMA 투여후 6시간군부터 48시간군까지 그리고 120시간군에서 나타났다(Fig. 2). 도관상피세포에서 neutral glycoconjugates가 증가하는 경향을 나타내었으며 특히 NDMA 투여후 12시간군과 120시간군에서 현저하였다.

2) 설 점액선

대조군의 설 점액선은 PAS반응, AB pH 2.5 및 pH 0.4 염색, AB pH 2.5-PAS염색, AF pH 1.7-AB pH 2.5 염색 및 HID-AB pH 2.5 염색의 결과로 보아 상당량 내지 다량의 strong sulfated glycoconjugates와 상당량의 neutral glycoconjugates를 가지는 대부분의 점액세포들과 상당량 내지 다량의 strong sulfated glycoconjugates와 상당량의 neutral glycoconjugates, 또는 소량내지 상당량 sialic gly-

coconjugates와 상당량의 neutral glycoconjugates를 함유하는 약간의 점액세포들이 섞여 있었다(Fig. 1a, 3a, 4a, 5a).

NDMA 투여군에서 대조군에 비해 NDMA 투여후 3시간군부터 glycoconjugates에 대한 염색성이 다같이 감소되었다가 96시간군 이후에 회복되는 경향을 나타내었다.

Neutral glycoconjugates의 감소와 acidic glycoconjugates의 감소가 거의 비슷하였으며 전자는 NDMA 투여후 3시간군, 24시간군 및 48시간군에서 현저히 감소하였으며 후자도 같은 시간대에 현저히 감소할뿐만 아니라 72시간군에서도 가장 현저히 감소하였다. Sulfated glycoconjugates는 NDMA 투여후 감소하는데 비해 sialic glycoconjugates는 NDMA 투여후 3시간군, 12시간군과 48시간군에서 오히려 증가하는 경향을 나타내었으며, sulfated glycoconjugates의 가장 현저한 감소는 NDMA 투여후 72시간군이었다(Fig. 5b).

고 찰

구강점막 및 설점막은 암호발 부위로 알려 있으며³⁵⁾ 특히 구강암과 설암의 위험인자로 흡연이 관여하는 것으로 알려졌다²⁷⁾. 담배⁵⁾ 및 식료품속^{12,36,37,38)}에 많이 함유하는 nitrosamine이 흰쥐의 설에 미치는 영향에 대한 연구는 없다.

본 연구에서 NDMA 투여군의 설 von Ebner선의 형태적인 주된 변화는 장액선포의 위축, 장액선포의 파괴, 장액선포의 세포질 감소, 소실 및 공포변성 그리고 도관상피세포의 점액화였으며 NDMA 투여후 12시간군부터 72시간군까지 현저하였다. NDMA 투여군의 설 점액선의 주된 형태적 변화는 점액선포의 확장, 융합, 파괴 및 점액세포의 세포질의 과립 소실 및 공포변성, 도관상피의 점액화 등이었으며 NDMA 투여후 12시간군부터 72시간군까지 현저하였다. 이러한 연구결과는 유기인계 농약인 DDVP, malathion, dipterex 및 EPN³⁹⁾, 그리고 PAP⁴⁰⁾, Carbamate계 농약 bassa, 유기염소계 thiodan 및 pyridin계 제초제 gramoxone⁴⁰⁾을 흰쥐에 투여하면 설 von Ebner선과 점액선에 미치는 영향과 정도의 차이는 있지만 유사한 변화를 나타낸다는 보고와 일치하였으며 또한 박성희²⁶⁾의 NDMA 투여후 흰쥐 십이지장선과 술잔세포에서 일어나는 변화와 거

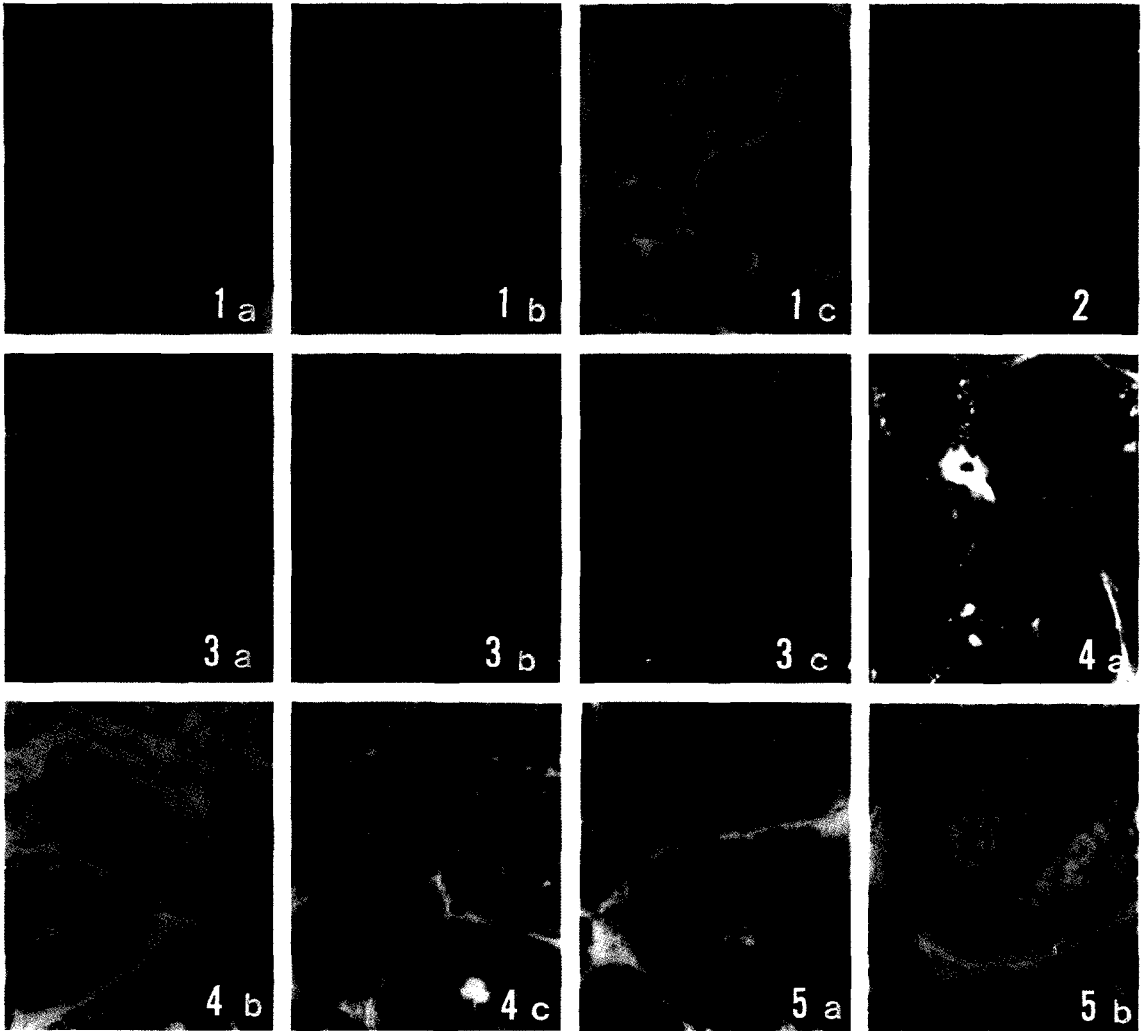


Fig. 1. In the control group(1a), The serous acini of the lingual von Ebner's gland exhibited intense to very intense red coloring with PAS staining. In NDMA administrated group for 12 hours(1b), the stainability was diminished drastically, and the morphological changes such as a withering and destruction of serous acini and mucinous changes of duct epithelial cells were detected. However, NDMA administrated group for 96 hours(1c) showed the recovering tendency to the control group(1a).×400.

Fig. 2. AF stainability which were not detected in control group exhibited purple coloring in a few serous cells of the lingual von Ebner's gland in NDMA administrated group for 48 hours with AF pH 1.7-AB pH 2.5 staining. ×400.

Fig. 3. In the control group(3a), The mucous acini of the lingual mucous gland exhibited intense red coloring with PAS staining. In NDMA administrated group for 72 hours(3b), the stainability was diminished strikingly, and a vacuolation and destruction of mucous acini occurred remarkably. NDMA administrated group for 96 hours (3c) showed the recovering tendency to the control group(3a). ×400.

Fig. 4. In the control group(4a), The mucous acini of the lingual mucous gland exhibited intense to very intense blue coloring with AB pH 2.5 staining. In NDMA administrated group for 48 hours(4b), the stainability

was diminished drastically, and a vacuolation and destruction of mucous acini appeared remarkably. NDMA administrated group for 120 hours (4c) showed the recovering tendency to the control group (4a). $\times 400$.

Fig. 5. In the control group (5a), most mucous acini of the lingual mucous glands exhibited moderate to intense black coloring with HID-AB pH 2.5 staining, while a few mucous acini of these glands showed intense blue or moderate to intense bluish black coloring. However, in NDMA administrated group for 24 hours, HID stainability of these acini tended to decrease, while AB pH 2.5 stainability were increased compared to the control group. $\times 400$.

의 일치하였다. 또한 본 연구에서 도관상피의 점액화가 일어나는 것은 각종 타액선 종양시 일어나는 변화^{41,42,43})와 유사한 변화가 일어난 것으로 사료되며 NDMA가 담배연기속에 많이 함유하는데 이것은 흡연이 설암의 위험인자²⁷)로 관여한다는 보고들을 뒷받침해주는 결과라고 사료된다.

그리고 타액선은 감성인자, X선 조사, 감염 혹은 atropin 및 항히스타민제 같은 약물 등에 의해 그 분비기능에 장애가 일어난다는 보고⁴⁴)와 항암제이며 면역억제제인 azathioprine 및 pilocarpine을 흰쥐에 투여하면 악화선과 이하선 세포들의 분비과립을 감소시키고 일부 사립체를 팽윤시킨다는 보고⁴⁵)처럼 NDMA도 흰쥐의 설 von Ebner선과 점액선의 대사에 심대한 영향을 미치는 것으로 사료된다.

구강의 내적 환경인자로서 구강내의 병원성 미생물에 대한 일차적 장벽으로²⁹) 기능을 담당하는 타액선의 분비물인 glycoconjugates 성상을 본 연구에서 prelectin법^{34,36})으로 acidic glycoconjugates(산성 점액질)과 neutral glycoconjugates(중성 점액질)을 검색하고 산성 점액질을 다시 sulfated glycoconjugates(sulfated mucin)과 nonsulfated glycoconjugates (nonsulfated mucin)으로 나누어 검색하였다.

본 연구의 대조군 흰쥐 설 von Ebner선은 상당량 내지 다량의 neutral glycoconjugates만 함유하고 있어 조운복³⁹)과 박수웅⁴⁰)의 정상 흰쥐 설 von Ebner선의 결과와 일치하였다.

본 연구에서 설 von Ebner선의 neutral glycoconjugates가 대조군에 비해 NDMA투여후 12시간군과 72시간군에서 현저히 감소되었으며 NDMA 투여후 96시간군후에 회복되는 경향을 나타내었다. 대조군에서 나타나지 않던 acidic glycoconjugates가 NDMA 투여후 6시간군부터 48시간군, 그리고 120시간군에서 약간의 장액세포들에서 나타났다.

이와 같은 결과는 각종 농약들이 설 von Ebner선에 미

치는 영향^{39,40})과 대부분의 장액선포들에서 유사한 결과를 나타내었으나 일부 장액선포세포들에서 acidic glycoconjugates가 나타나는 것이 각종 농약 투여군과 차이가 있는 것으로 보아 각종 농약들이 설 von Ebner선에 미치는 독성과 유사한 독성을 대부분의 장액선포들에서 유발시키나 일부 장액선포들에서 점액화가 일어나고 도관상피의 일부가 점액화 되고 중성점액질의 분비가 인정되는 것은 상피성 종양시⁴²) 일어나는 결과와 유사하여 NDMA가 각종 농약들보다 더 강한 독성을 나타낸 것으로 사료된다.

본 연구의 대조군 설 점액선은 상당량 내지 다량의 strong sulfated glycoconjugates와 상당량의 neutral glycoconjugates를 가지는 대부분의 점액세포들과 이들 외에 소량 내지 상당량의 sialic glycoconjugates와 상당량의 neutral glycoconjugates를 함유하는 약간의 점액세포들이 섞여 있어 조운복³⁹)과 박수웅⁴⁰)의 정상 흰쥐 설점액선과 거의 일치하였다.

설 점액선의 neutral glycoconjugates와 acidic glycoconjugates가 대조군에 비해 NDMA 투여후 3시간군, 24시간군, 48시간군에서 다같이 현저히 감소되었으며, 후자는 NDMA 투여후 72시간군에 아주 현저히 감소하였다. acidic glycoconjugates중 sulfated glycoconjugates는 대조군에 비해 NDMA 투여후 감소하는 경향을 나타내며 NDMA 투여후 72시간군에 가장 현저한 감소를 나타내는데 비해 sialic glycoconjugates는 NDMA 투여후 3시간군, 12시간군 및 48시간군에서 증가하는 경향을 나타내었다.

이와 같은 사실은 조운복³⁹)의 유기인제 농약인 DDVP, malathion, dipterex 및 EPN이 흰쥐 설선에 미치는 영향, 박수웅⁴⁰)의 유기인제 농약인 PAP, carbamate제인 bassa, 유기염소제인 thiodan 및 제초제인 gramoxone이 흰쥐 설선에 미치는 영향과 비슷하였으나 본 연구에서 도관상피의 점액화가 일어나 각종 타액선 종양시 일어나는 변화^{41,42,43})와 유사한 변화가 일어난 것으로 보아 각종 농약들보다 더

강한 독성을 나타낸 것 같다. 또한 대장암 인접부위의 술잔 세포^{47,48)}, 췌양성 결장염과 Crohn 질환의 결장 술잔세포⁴⁹⁾의 sulfated glycoconjugates는 감소되거나 없어지고 sialic glycoconjugates가 증가된다는 보고와도 유사하여 NDMA는 구강의 내적 환경에 유해한 질환성 독성인자로 작용하는 것 같으며 NDMA 투여군에서 acidic glycoconjugates와 neutral glycoconjugates의 감소와 증가 그리고 정상변화와 같은 변화가 일어나는 것으로 보아 생체 방어기작에 강한 내적 환경조성에 중요한 생리적 역할을 담당하는 glycoconjugates²⁵⁾ NDMA독성에 대해 적극적으로 방어기작에 관여하는 것으로 생각된다.

요 약

발암물질인 NDMA 17mg/kg을 경구 투여했을 때 흰쥐 설 von Ebner선과 설 점액선의 glycoconjugates에 미치는 영향을 plectin 조직화학법인 PAS반응, AB pH 2.5 염색법, AB pH 0.4 염색법, AB pH 2.5 -PAS 염색법, AF pH 1.7-AB pH 2.5 염색법 및 HID-AB pH 2.5 염색법으로 연구하였다.

NDMA 투여군의 설 von Ebner선의 형태적인 주된 변화는 장액선포의 위축 및 파괴, 장액세포의 세포질 파괴의 감소 및 소실, 세포질의 공포변성 그리고 도관상피세포의 점액화였으며 NDMA 투여후 12시간군부터 72시간군까지 현저하였다. NDMA 투여군의 설점액선의 주된 형태적 변화는 점액선포의 확장, 융합, 파괴 및 점액세포의 세포질의 파괴 소실 및 공포변성, 도관상피의 점액화 등이었으며 NDMA 투여후 12시간군부터 72시간군까지 현저하였다.

설 von Ebner선의 neutral glycoconjugates가 대조군에 비해 NDMA 투여후 12시간군과 72시간군에서 현저히 감소되었으며 NDMA 투여후 96시간군후에 회복되는 경향을 나타내었다. 대조군에서 나타나지 않던 acidic glycoconjugates가 NDMA 투여후 6시간군부터 48시간군, 그리고 120시간군에서 약간의 장액세포들에서 나타났다.

설 점액선의 neutral glycoconjugates와 acidic glycoconjugates가 대조군에 비해 NDMA 투여후 3시간군, 24시간군, 48시간군에서 다같이 현저히 감소되었으며, 후자는 NDMA 투여후 72시간군에 아주 현저히 감소하였다. Acidic glycoconjugates중 sulfated glycoconjugates는 대조군

에 비해 NDMA 투여후 감소하는 경향을 나타내며 NDMA 투여후 72시간군에 가장 현저한 감소를 나타내는데 비해 sialic glycoconjugates는 NDMA 투여후 3시간군, 12시간군 및 48시간군에서 증가하는 경향을 나타내었다.

감사의 글

본 연구는 1996년도 부산대학교 학술연구조성비를 지원 받아 수행되었음.

참 고 문 헌

1. Pitot, H. C., Barsness, L. and Goldsworthy, T. : Biochemical characterization of stages of hepatocarcinogenesis after a single dose of diethylnitrosamine, *Nature*, **271**, 456-458(1978)
2. Ayanaba, A., Verstraete, W. and Alexander, M. : Formation of dimethylnitrosamine, a carcinogen and mutagen, in soils treated with nitrogen compounds, *Soil Sci. Soc. Amer. Pro.*, **37** : 565-568, (1973)
3. Tatsuta, M., Iishi, H., Baba, M., Nakaizumi, A., Ichii M. and Taniguchi H. : Promotion by bombesin of gastric carcinogenesis induced by N-methyl-N'-nitro-N'-nitrosoguanidine in wistar, *Cancer Res.*, **49**, 52 54-525(1989)
4. Lilly, J., Bahner, B. : Chromosome aberrations induced in rat lymphocytes by N-nitro compounds as a possible basis for carcinogen screening, *Nature*, **258**, 611-612(1975)
5. Hoffmann, D., Rivenson A., Abbi, R. and Wynder, E. L. : A study of tobacco carcinogenesis. Effect of the fat content of the diet on the carcinogenic activity of 4-(methylnitrosoamine)-1-(3-pyridyl)-1-butanone in F344 rats, *Cancer Res.*, **53**, 2758-2761 (1993)
6. 박건영, 최홍식 : 김치와 니트로소아민, *한국영양식량학지*, **21**, 109-116(1992)
7. Rawland, I. R., and Grasso, P. : Degradation of N-nitrosamines by intestinal bacteria, *Appl. Microbiol.*, **29**, 7-12(1975)
8. 김성열, 강국희, 박동기 : 식품화학특론 -식품성분간 상호작용-, *유한문화사*, p. 316(1985)
9. 임창국, 윤명조, 권숙표 : 식품중의 nitrosamine에 대한 연구. *한국식품과학회지*, **5**, 169-173(1973)
10. Oliver, J. E., Kearney, P. C. and Kontson, A. : Degradation of herbicide-related nitrosamines in aerobic

- soils, *J. Agric. Fd. Chem.*, **27**, 887-891(1979)
11. Fan, T. Y. and Fine, D. I. : Formation of N-nitrosodimethylamine in the injection port of a gas chromatograph, An artifact in nitrosamine analysis, *J. Agric. Fd Chem.* **26**, 1471-1472(1978)
 12. Gough, T. A., Webb, K. S., Pringuer, M. A. and Wood, B. J. : A comparison of various mass spectrometric and a chemiluminescent method for the estimation of volatile nitrosamines, *J. Agric. Fd Chem.* **25**, 663-337(1977)
 13. Mackown, C. T., Douglass, B., Diordjevic, M. V. and Buch, L. P. : Tobacco-specific N-nitrosamines : Formation during processing of midrib and lamina fines, *J. Agric. Fd CFhem.* **36**, 1031-1035(1988)
 14. Fan, T. Y., Goff, U., Song, L. and Fine, D. H. : N-nitrosodihomolamine in cosmetics, lotions and shampoos, *Fd Cosmet. Toxic.* **15**, 423-430(1977)
 15. Bhide, S. V., Nair, U. J. and Nair, J. : N-Nitrosamine in the saliva of tobacco chewers or masheri users, *Fd Chem. Toxic.* **24** : 293-297, (1986)
 16. Hawrylewicz, E. J., Huang, H. H. and Liu, J. M. : Dietary protein, enhancement of N-nitromethylurea-induced mammary carcinogenesis and their effect on hormone regulation in rats, *Cancer Res.*, **46**, 4395-4399(1986)
 17. Yamamoto, M., Ishiwata, H., Yamada, T., Tanimura, A. : HPLC determination of N-nitrosomethylurea in biological fluids by reaction with 4-nitrothiophenol, *Fd chem. Toxi.*, **24**, 247-250(1986)
 18. Takata, K., Hirano, H. : Changes in soybean agglutinin (SBA) and peanut agglutinin (PNA) binding pattern in the epidermis of the developing chick embryo, *Dev. Growth Differ.*, **25**, 299-305(1983)
 19. Guttenplan, J. B. : Inhibition by L-ascorbate of bacterial mutagenesis induced by two N-nitroso compounds, *Nature*, **268**, 368-370(1977)
 20. Smith, T. J., Guo, Z., Li, C., Ning, S. M., Thomas, P. E. and Yang, C. S. : Mechanisms of inhibition of 4-(methylnitrosamine)-1-(3-pyridyl)-1-butanone bioactivation in mouse by dietary phenethyl isothiocyanate, *Cancer Res.*, **53**, 3276-3282(1993)
 21. Yoo, J. S. H., Guengerich, F. P. and Yang, C. S. : Metabolism of N-nitrosodiakylamines by human liver microsomes, *Cancer Res.*, **48**, 1499-1504(1988)
 22. 이선화, 우선자 : 배추김치 숙성중 일부 첨가재료가 질산염, 아질산염 및 Vitamin C 함량에 미치는 영향. *한국식품화학학회지*, **4**, 161-166(1989)
 23. Heatley, N. G. : Mucosubstances as a barrier to diffusion, *Gastroenterology*, **37**, 313-317(1959)
 24. Filipe, M. I. and Branfoot, A. C. : Abnormal patterns of mucous secretion in apparently normal mucosa of large intestine with carcinoma, *cancer*, **34**, 282-290(1974)
 25. Sheahan, D. G. and Jervis, H. R. : Comparative histochemistry of gastrointestinal mucosubstances, *Am. J. Anat.* **146**, 103-117(1976)
 26. 박성희 : N-nitrosodimethylamine이 흰쥐 십이지장 및 공장 점막의 Glyco-conjugates에 미치는 영향에 대한 조직화학, *고신대학 박사학위 논문*, (1996)
 27. Tubiana, M. : Trends in primary and secondary prevention, *Cancer detection and prevention*, **15**, 1-5(1991)
 28. Doll, R., Peto, R., Wheatley, K., Gray, R. and Sutherland, I. : Mortality in relation to smoking : 40 year's observations on make British doctors, *British Medical Journal*, **309**, 901-911(1994)
 29. Quissell, D. O. and Tabak, L. A. : Salivary mucin secretion., In Schultz S. G., Forte J. G., Rauner B. B., eds., *Handbook of physiology*. Rockville M. D., American Physiological society, **79**, (1989)
 30. McManus, J. F. A. : Periodic acid Schiff's reaction. stain techn., **23** : 99-108, 1948(AFIP modification) Copyright by manual of histologic staining methods of the armed forces institute of pathology, 3rd ed., pp.160(1968)
 31. Spicer, S. S. and Meyer, D. B. : Histochemical differentiation of acid mucopoly-saccharides by means of combined aldehyde fuchsin-alcian blue staining, *Am. J. Clin. Path.* **33**, 454-460(1960)
 32. Johnson, F. B., *Manual of histologic special staining technics*, 2nd ed., pp.141, McGraw-Hill Book Co., 1960. (Cited from manual of histologic staining methods of the armed forced institute of pathology, 3rd ed., pp.163, 1968)
 33. Lev, R. and Spicer, S. S., A histochemical comparison of human epithelial mucin in normal and in hypersecretory states including pancreatic cystic fibrosis, *Am. J. Path.*, **46** : 23-47(1965)
 34. Spicer, S. S. : Histochemical differentiation of mammalian mucopolysaccharide, *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, **106**, 379-388(1963)
 35. Zheng, T., Holford, T., Chen, Y., Jiang, P., Zhang B. and Boyle P. : Risk of tongue cancer associated with tobacco smoking and alcohol consumption : a case-control study, *Oral Oncology*, **33**(2), 82-85(1997)
 36. Singer, G. M. and Ji, C. : Biomimetic synthesis of N-nitroso-N-(1-methylacetyl)-3-methylbutylamine

- : An unusual carcinogenic nitrosamine in foods of Linxian, China, *J. Agric. Fd Chem.*, **35**, 130-132 (1987)
37. Lin, R. H., Conboy, J. J. and Hotchkiss, J. H. : Nitrosation by nitro-nitro derivatives of olefins, A potential mechanism for N-nitrosamine formation in fried bacon, *J. Agric. Fd Chem.*, **36**, 984-987(1988)
38. Havery, D. O. and Fazio, T. : Human exposure to nitrosamines from foods, *Food Tech.*, **80-83**, (1985)
39. 조운복 : 흰쥐 설선내 점액질에 미치는 유기인계계 농약의 영향, *부산의대잡지*, **17(2)**, 23-35(1977)
40. 박수용 : 흰쥐 설선내 점액질의 성상에 미치는 몇종 농약의 영향에 관한 비교조직화학적 연구, *부산대학교 의학박사 학위논문*, (1981)
41. 최경관 : 타액선 종양조직의 Lectin 분포에 관한 연구, *서울대학교 치의학석사 학위논문*, (1992)
42. 윤명인 : 타액선 종양들이 생성한 점액질에 관한 조직화학적 연구, *부산대학교 의학박사 학위논문*, (1984)
43. 황순열 : 타액선 상피성 종양의 임상적 및 병리 조직학적 고찰, *부산대학교 의학석사 학위 논문*, (1985)
44. Adkins, K. F. and Moule, A. J. : Drug-induced Xerostomia : Cellular changes produced in parotid acinar cells by azathioprine, *Newzeal. J. Dent.*, **69**, 112 (1973)
45. 고재무 : Azathioprine Piloocarpine이 백서 타액선에 미치는 영향에 관한 조직화학적 연구. *최신 의학*, **17**, 941(1974)
46. Spicer, S. S. and Schulte, B. A. : Diversity of cell glycoconjugates shown histochemically : A perspective, *J. Histochem. Cytochem.* **40**, 1-38(1992)
47. Filipe, M. I. : Value of histochemical reactions for mucosubstances in the diagnosis of certain pathological conditions of colon and rectum, *Gut*, **10**, 577-586(1969)
48. Filipe, M. I. : The value of a study of the mucosubstances in rectal biopsies from patients with carcinoma of the rectum and lower sigmoid colon in the diagnosis of premalignant mucosa, *J. Clin. Pathol.*, **25**, 123-128(1972)
49. Filipe, M. I. and Dawson, I. : The diagnostic value of mucosubstances in rectal biopsies from patients with ulcerative colitis and Crohn's disease, *Gut*, **11**, 229-234(1970)