

## 표 지

# 흰쥐 악하선에서 교감신경과 부교감신경에 의한 나트륨 운반체 및 수분 통로 조절

김기영, 유선열

### 저자연락처

우편번호 501-757

광주광역시 동구 학동 5번지

전남대학교 치과대학 구강악안면외과학교실

### 유 선 열

Tel. 062-220-5439

Fax. 062-228-8712

E-mail : ryu-suny@hanmail.net

# 흰쥐 악하선에서 교감신경과 부교감신경에 의한 나트륨 운반체 및 수분 통로 조절

김기영, 유선열

전남대학교 치과대학 구강악안면외과교실

## Abstract

### ALTERED EXPRESSION OF SODIUM TRANSPORTERS AND WATER CHANNELS FOLLOWING SYMPATHETIC AND PARASYMPATHETIC DENERVATION IN RAT SUBMANDIBULAR GLAND

Gi-Young Kim, Sun-Youl Ryu

Department of Oral and Maxillofacial Surgery, College of Dentistry,  
Dental Science Research Institute, Chonnam National University

The flow of saliva is controlled entirely by nervous stimuli. The present study was aimed to explore the role of sympathetic and parasympathetic nerves in the regulation of sodium transporters and water channels in the salivary gland. Rats were denervated of their sympathetic and parasympathetic nerves to the submandibular gland, and the expression of sodium transporters and water channels was determined. The expression of either  $\alpha$ -1 or  $\beta$ -1 subunit of Na,K-ATPase was not significantly affected by the sympathetic denervation. On the contrary, the expression of both subunits was decreased by the parasympathetic denervation. The expression of  $\alpha$ -,  $\beta$ -, and  $\gamma$ -subunits of ENaC was not significantly affected by the sympathetic denervation, but was increased by the parasympathetic denervation. On the contrary, the expression of NHE3 was markedly decreased by both the sympathetic and the parasympathetic denervation. The sympathetic denervation significantly increased the expression of AQP1,

while the parasympathetic denervation was without effect. The sympathetic and parasympathetic denervation significantly increased the expression of AQP4. The sympathetic denervation did not affect the expression of AQP5, but the parasympathetic denervation significantly decreased it. These results suggest that sympathetic and parasympathetic nerves have tonic effects on the regulation of sodium transporters and AQP water channels in the salivary gland. The sympathetic and parasympathetic denervation may then result in alterations of secretory rate and electrolyte composition of the saliva.

**Key words** : Sympathetic and parasympathetic nerves, Sodium transporters,  
Water channels, Salivary gland

## I. 서 론

타액 분비는 호르몬과 무관하게 전적으로 신경계에 의해 조절된다. 그러므로 중추신경과 단절된 타액선은 절후 부교감 신경섬유의 신경핵 변성이 일어나더라도 몇 일 동안 타액 분비가 일어나기도 하지만 일반적으로 어떤 분비 기능을 보이지 않는다. 뿐만 아니라 신경절제 후 타액이 분비되더라도 그 함유 효소의 활성이나 무기질 성분이 변화된다. 흰쥐에서 고삭신경이 잘렸을 때 악하선 안에서 키닌을 합성하는 효소 활성이 감소되며<sup>1)</sup>, 상경부 신경핵을 외과적으로 제거할 때 악하선의 칼슘 농도가 감소된다<sup>2)</sup>. 사람에서도 신경이 절제된 이하선에서 나트륨과 염소 이온의 분비가 증가됨을 볼 수 있다<sup>3)</sup>.

타액선 도관계는 수동적으로만 기능하는 단순한 도관이 아니라 실제 타액 분비에 어떠한 기능을 담당하고 있음이 잘 알려져 있다. 구조적으로 보더라도 부교감 신경섬유가 타액선 주배설관 및 혈관과 인접해서 진행하며, 선조세관 둘레에 작은 섬유층이 존재하고 여기에서 기시한 섬유는 개재관을 따라 주행한 후 선포세포 표면에 퍼져 있다. 교감신경도 또한 선조세관, 개재관, 선포 세포와 밀접히 연관되어 있다. 타액선내 신경 조절 기전이 변조되면 도관 상피세포를 통한 전해질 재흡수가 영향을 받아 분비되는 타액의 전해질 조성이 변하게 된다. 따라서 구강내에 분비되는 최종 타액 조성은 도관내에서 일어나는 광범위한 변화에 의해 결정된다. 예를 들어 타액선 도관 안에서 나트륨 재흡수가 증가되면 이차 타액 분비율이 감소한다.

타액선 상피세포에 존재하는 여러 가지 나트륨 운반체 가운데 Na,K-ATPase는 선포세포, 선조세관, 개재관, 배설관의 기저측면 세포막을 따라 분포된다<sup>4-6)</sup>. 흰쥐 악하선에서 sodium-hydrogen exchanger-1(NHE1)은 기저측막에 발현되고 NHE2, NHE3는 내강측막에 발현된다<sup>7)</sup>. 또한 면역형광 및 면역과산화효소 광학현미경 소견을 통해 사람 악하선, 이하선, 설하선의 기저측면에서 NHE1를 그리고 내강측에서 NHE3를 관찰할 수 있다<sup>8)</sup>. 신장의 근위 세뇨관에서 발현되는 NHE3 공동 운반체들은 기저측막에 발현되는 Na,K-ATPase와 함께 나트륨 재흡수와 수소 이온 배출에 관여한다<sup>9)</sup>. 이와 비슷하게 타액선에서도 NHE3는 Na,K-ATPase와 함께 나트륨 재흡수와 수소 이온 배출에 관여하리라 생각된다.

Epithelial sodium channel (ENaC)은  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ - 소단위로 구성되어 있으며 이는 기능적으로 신장의 원위세뇨관, 원위부 결장, 폐, 타액선을 비

못한 외분비선 등에서 상피세포를 통한 나트륨 재흡수를 조절하는 율속과정이 된다<sup>10)</sup>. 타액선에서는 ENaC의 3가지 소단위가 장액선 세포의 선조세관에 발현된다<sup>11)</sup>. 신장에서 ENaC은 연결세관, 피질 집합관, 외수질 집합관, 내수질 집합관 등에서 발현되며<sup>12-14)</sup>, 이 곳에서 aldosterone과 vasopressin 등에 의해 조절되는 나트륨 재흡수를 매개한다<sup>14-17)</sup>. 타액선에서도 이와 유사하게 ENaC에 대한 조절 기전이 있으리라 생각되며, 타액선이 특이하게 신경에 의한 조절 기전이 우세한 장기임을 고려한다면 신경에 의한 기전에 의해서 ENaC이 조절될 가능성이 있고 이는 결국 타액의 분비량과 조성에 영향을 미칠 수 있다. 그러나 ENaC의 조절이 신경에 의해 어떻게 영향을 받는지는 알려지지 않았다.

수분은 타액의 다양한 성분 가운데 가장 풍부하다. 타액선 도관에서 수분 재흡수는 부분적으로 삼투에 의한다. 타액선에서의 수분 이동은 정수압에 의해 발생하는 다른 기관과는 다르게 염분 이동에 의해 발생하는 삼투압에 의해 이차적으로 일어난다. 최근 분자 생물학의 발전으로 상피세포에서 수분 이동은 세포막에 존재하는 aquaporin(AQP) 수분 통로를 통해 일어난다는 것이 알려졌다. 타액선에는 5가지 동위형의 AQP이 존재한다고 알려졌으며 이들 통로를 통해 수분 투과가 일어난다. 그러므로 타액내 전해질 농도 변화는 적어도 부분적으로 AQP 통로의 기능과 관련되어 있다.

본 연구는 타액선에서 교감 신경과 부교감 신경이 나트륨 운반체와 수분 통로의 조절에 어떠한 기능을 하는지 알아보려고 하였다. 흰쥐에서 악하선을 지배하는 교감 신경과 부교감 신경을 절제하고 선의 나트륨 운반체와 수분 통로의 발현을 조사함으로써 이 신경들에 의한 긴장성 조절 기전을 구명하고자 하였다.

## II. 실험재료 및 방법

### 1. 부교감 신경 및 교감 신경 절제

실험재료는 체중 약 250g의 흰쥐를 사용하였다. 케타민 50 mg/kg를 복강내에 주입하여 동물을 마취시킨 후 양와위로 고정하였다. 악하선을 지배하는 부교감 신경인 고삭신경은 뇌교 상타액핵에서 기시하여 중간신경을 따라 주행하다가 삼차신경의 설신경과 합하여 구강저부에 이르러 설신경이 악하선 및 설하선과 교차하는 부위의 윗쪽에서 분리되고 후내방으로 우회하여 양선의 배설관과 나란히 하여 타액선에 도달하므로 설신경에서 분리되는 부위에서 절단하였다. 경부 교감신경은 상부 흉수에서 기시하여 총경동맥을 따라 상행하여 상경신경절에 이르므로 이 신경절을 제거하였다. 대조군은 마취상태에서 구강저부 피부를 절개하였으나 신경은 다치지 않고 그대로 보존하였다.

### 2. 단백질 처리와 Western blot 분석

신경 절단 1주일 후 동물을 마취하지 않고 의식이 있는 채로 단두하여 즉사시키고 이어서 신속히 양쪽 악하선을 분리하였다. 떼어낸 악하선은  $-70^{\circ}\text{C}$ 에 빠르게 동결한 후 분석할 때까지 보관하였다. Western blot 분석을 위해 타액선을 반쯤 녹인 상태에서 pH 7.6, 250 mM sucrose, 1 mM ethylenediaminetetraacetate, 0.1 mM phenylmethylsulfonyl fluoride, 10 mM Tris-HCl 완충용액을 포함한 용액내에서 3000rpm으로 균질화시켰다. 균질화한 조직에서 큰 조직 부스러기와 핵 절편을 제거하기 위해 저속 원심분리하고 상청액을 취하였다. 단백질 표본들을 12.5% polyacrylamide resolving gel과 5% polyacrylamide stacking gel로 구성된 discontinuous system을 이용해 전기영동하여 크기에 따라 구분했다. 그리고 나서 밤새워 20V에서 전기영동방법으로 nitrocellulose 막으로 옮겼다. 막을 0.1% Tween-20 (TBST)을 포함한 Tris-based saline buffer (pH 7.4)에서 씻은 후 5% 무지방 분유로 1시간 동안 차폐하였다. 그 후 막을 AQP1, AQP4, AQP5에 대한 affinity-purified anti-rabbit polyclonal 항체, Na,K-ATPase의 monoclonal mouse anti- $\alpha 1$ ,  $-\beta 1$  항체(Upstate Biotechnology; Lake Placid, NY, USA), polyclonal rabbit anti-NHE3(Alpha Diagnostic; San Antonio,

TX, USA) 및 ENaC의 polyclonal rabbit anti- $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ - 소단위 항체 (Alpha Diagnostic; San Antonio, TX, USA)와 함께 상온에서 1시간 동안 부치하였다. 그 후 2% 무지방 분유내에서 horseradish peroxidase-labeled goat anti-rabbit IgG와 함께 2시간 동안 부치하였다. 결합된 항체는 고감도 필름상에 enhanced chemiluminescence로 알 수 있다. 상대적인 단백질량은 transmitter scanning videodensitometer를 이용해 분석하였다.

### 3. 약물 및 통계분석

약물은 다른 언급이 없는 한 Sigma 사 제품을 썼다. 결과는 평균± 표준오차로 나타냈다. 군간 차이에 대한 통계적 유의성은 unpaired t-test를 이용해 결정했다.

### III. 실험결과

#### 1. Na,K-ATPase 발현

그림 1과 2는 악하선에서 Na,K-ATPase의  $\alpha$ -1,  $\beta$ -1 소단위 발현을 보인다.  $\alpha$ -1,  $\beta$ -1 소단위는 교감 신경 절단에 의해 크게 영향받지 않았으나 부교감 신경 절단에 의해서는 두 소단위의 발현이 모두 감소되었다.

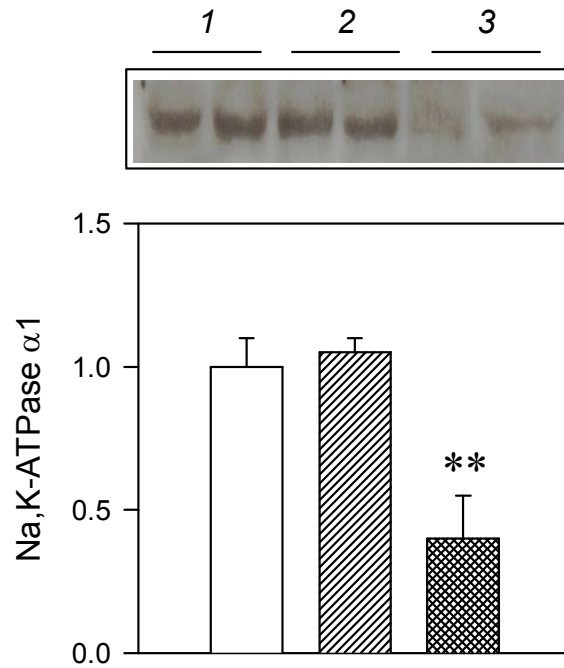
#### 2. ENaC 및 NHE3 발현

그림 3-6은 악하선 조직에서 나트륨 운반체 발현을 보여준다. NHE3는 교감 신경 및 부교감 신경 절단에 의해 크게 감소했다(그림 3). ENaC  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ - 소단위는 그 발현이 교감 신경 절단에 의해 영향을 받지 않았으나 부교감 신경 절단에 의해서 도리어 증가했다(그림 4-6).

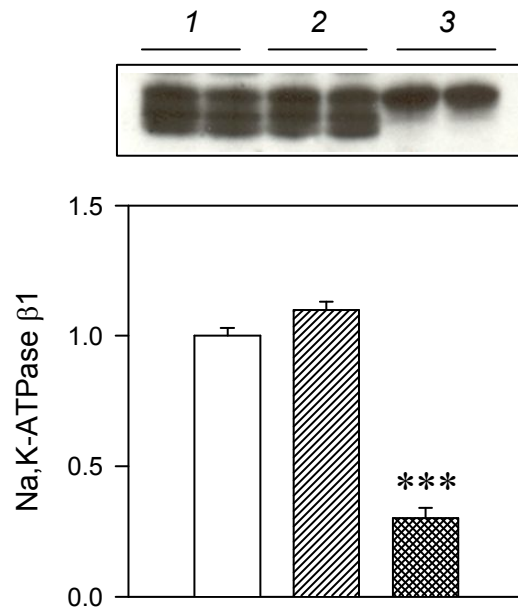
#### 3. AQP 수분 통로의 발현

교감 신경 절단시 AQP1의 발현이 크게 증가했으나, 부교감 신경 절단시 영향받지 않았다(그림 7). AQP4 발현은 교감 신경 및 부교감 신경 절단시 크게 증가되었다(그림 8). AQP5는 교감 신경 절단시 영향을 받지 않았으나 부교감 신경 절단시 크게 감소되었다(그림 9).

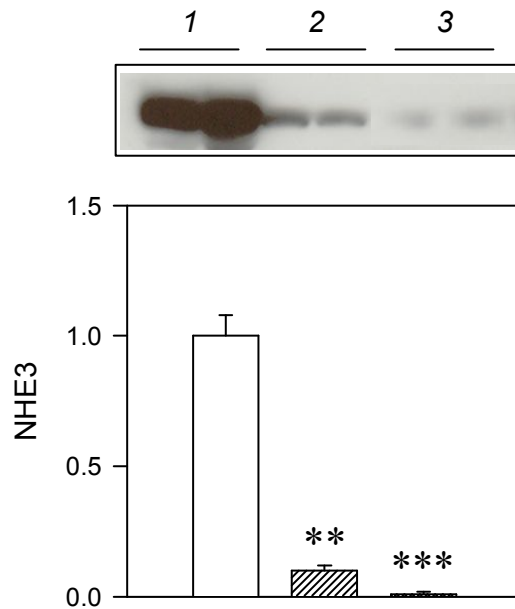




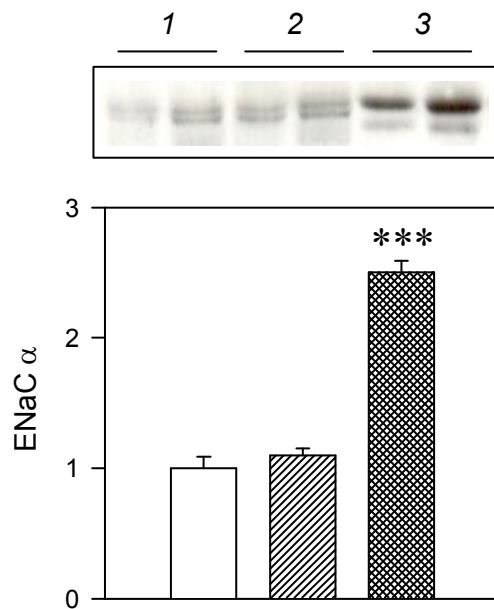
**Fig. 1.** Expression of  $\alpha$ -1 subunits of Na,K-ATPase in the sympathetic and parasympathetic-denervated submandibular gland. Representative immunoblots and densitometric data are shown. Lanes 1, 2 and 3 represent control, sympathetic-denervated, and parasympathetic-denervated, respectively. (□) control; (▨) sympathetic-denervated; (▩) parasympathetic-denervated. Each column represents the mean  $\pm$  SEM of 6 rats. \*\* $p < 0.01$ , compared with control.



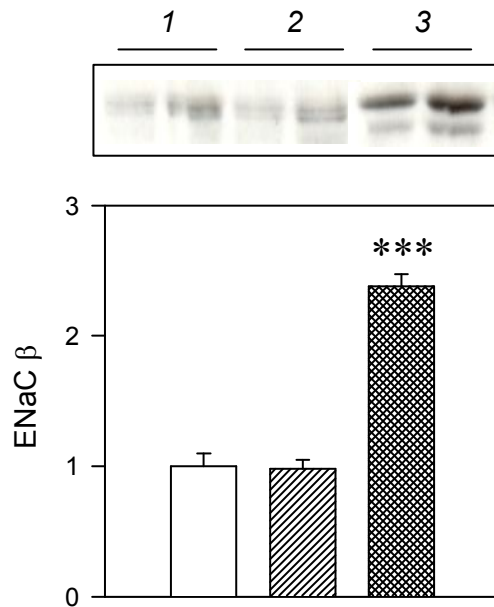
**Fig. 2.** Expression of  $\beta$ -1 subunits of Na,K-ATPase in the sympathetic and parasympathetic-denervated submandibular gland. Representative immunoblots and densitometric data are shown. Lanes 1, 2 and 3 represent control, sympathetic-denervated, and parasympathetic-denervated, respectively. ( $\square$ ) control; ( $\text{▨}$ ) sympathetic-denervated; ( $\text{▩}$ ) parasympathetic- denervated. Each column represents the mean  $\pm$  SEM of 6 rats. \*\*\* $p$ <0.01, compared with control.



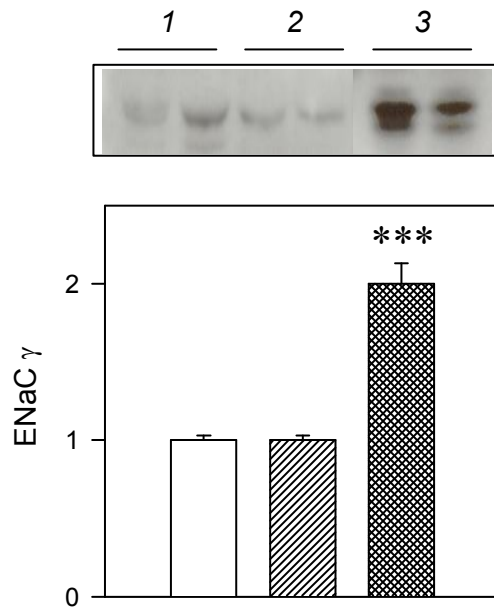
**Fig. 3.** Expression of NHE3 in the sympathetic and parasympathetic-denervated submandibular gland. Representative immunoblots and densitometric data are shown. Lanes 1, 2 and 3 represent control, sympathetic-denervated, and parasympathetic-denervated, respectively. (□) control; (▨) sympathetic-denervated; (▩) parasympathetic-denervated. Each column represents the mean  $\pm$  SEM of 6 rats. \*\* $p < 0.01$ , \*\*\* $p < 0.001$ , compared with control.



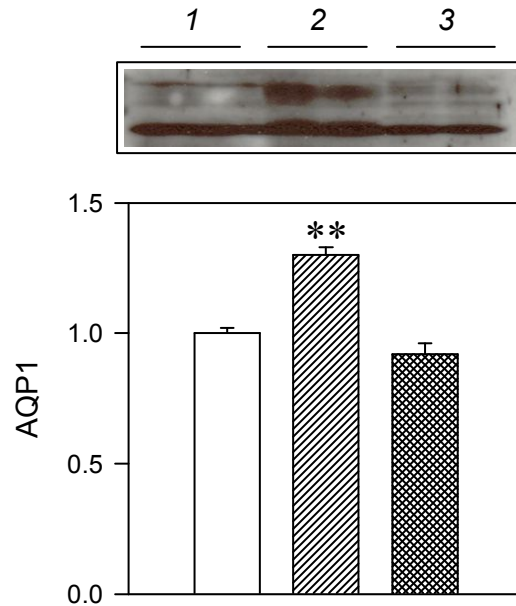
**Fig. 4.** Expression of  $\alpha$ -subunit of ENaC in the sympathetic and parasympathetic-denervated submandibular gland. Representative immunoblots and densitometric data are shown. Lanes 1, 2 and 3 represent control, sympathetic-denervated, and parasympathetic-denervated, respectively. ( $\square$ ) control; ( $\text{▨}$ ) sympathetic-denervated; ( $\text{▩}$ ) parasympathetic-denervated. Each column represents the mean  $\pm$  SEM of 6 rats. \*\*\* $p$ <0.01, compared with control.



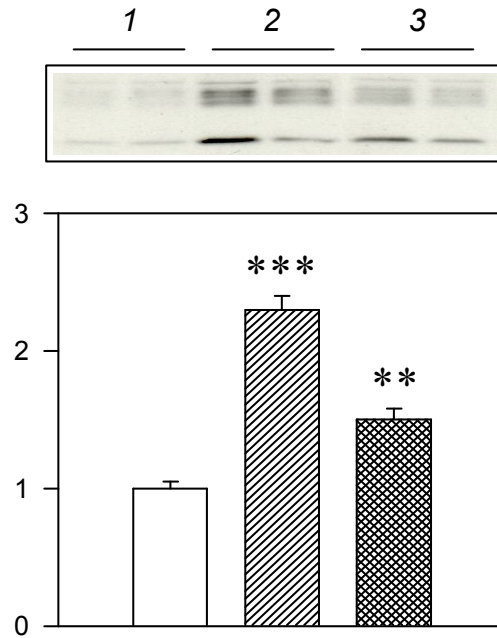
**Fig. 5.** Expression of  $\beta$ -subunit of ENaC in the sympathetic and parasympathetic-denervated submandibular gland. Representative immunoblots and densitometric data are shown. Lanes 1, 2 and 3 represent control, sympathetic-denervated, and parasympathetic-denervated, respectively. ( $\square$ ) control; ( $\text{▨}$ ) sympathetic-denervated; ( $\text{▩}$ ) parasympathetic-denervated. Each column represents the mean  $\pm$  SEM of 6 rats. \*\*\* $p$ <0.01, compared with control.



**Fig. 6.** Expression of  $\gamma$ -subunit of ENaC in the sympathetic and parasympathetic-denervated submandibular gland. Representative immunoblots and densitometric data are shown. Lanes 1, 2 and 3 represent control, sympathetic-denervated, and parasympathetic-denervated, respectively. ( $\square$ ) control; ( $\text{\textbackslash}$ ) sympathetic-denervated; ( $\otimes$ ) parasympathetic-denervated. Each column represents the mean  $\pm$  SEM of 6 rats. \*\*\* $p < 0.01$ , compared with control.

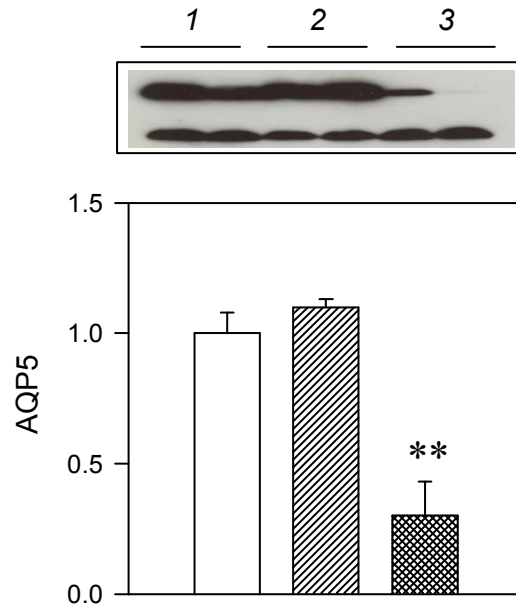


**Fig. 7.** Expression of AQP1 in the sympathetic and parasympathetic-denervated submandibular gland. Representative immunoblots and densitometric data are shown. The anti-AQP1 antibody recognized 29-kDa and 35- to 50-kDa bands, corresponding to nonglycosylated and glycosylated AQP1, respectively. Lanes 1, 2 and 3 represent control, sympathetic-denervated, and parasympathetic-denervated, respectively. (□) control; (▨) sympathetic-denervated; (▩) parasympathetic-denervated. Each column represents the mean ± SEM of 6 rats. \*\* $p < 0.01$ , compared with control.



**Fig. 8.** Expression of AQP4 in the sympathetic and parasympathetic-denervated submandibular gland. Representative immunoblots and densitometric data are shown. The anti-AQP1 antibody recognized 29-kDa and 35- to 50-kDa bands, corresponding to nonglycosylated and glycosylated AQP1, respectively. Lanes 1, 2 and 3 represent control, sympathetic-denervated, and parasympathetic-denervated, respectively. (□) control; (▨) sympathetic-denervated; (▩) parasympathetic-denervated. Each column represents the mean ± SEM of 6 rats. \*\*p<0.01, \*\*\*p<0.01, compared with control.





**Fig. 9.** Expression of AQP5 in the sympathetic and parasympathetic-denervated submandibular gland. Representative immunoblots and densitometric data are shown. The anti-AQP1 antibody recognized 29-kDa and 35- to 50-kDa bands, corresponding to nonglycosylated and glycosylated AQP1, respectively. Lanes 1, 2 and 3 represent control, sympathetic-denervated, and parasympathetic-denervated, respectively. (□) control; (▨) sympathetic-denervated; (▩) parasympathetic-denervated. Each column represents the mean ± SEM of 6 rats. \*\* $p < 0.01$ , compared with control.

#### IV. 고 찰

타액선을 지배하는 부교감 신경이 절제되면 선의 타액 분비가 크게 감소된다. 부교감 신경 또는 교감 신경 절제 후 일어나는 타액선의 조직학적 변화에 대해서는 일찍부터 잘 알려져 있다. 선조직의 구조적, 기능적 변화도 교감 신경 절제 때에 비하여 부교감 신경 절제 후 특히 심각하다. 비록 신경이 재생되면 선조직이 이전 무게를 회복하기는 하지만 고삭신경 절제 후 선조직이 위축 소견을 보인다. 고삭신경 절제 후 나타나는 악하선의 현미경 소견은 양적으로 오히려 증가되어 보이는 결합 조직을 제외하고는 선조직의 모든 구조물이 그 크기가 감소되며<sup>18)</sup>, 반대로 교감 신경 절제시에는 조직의 위축을 거의 볼 수 없다<sup>19)</sup>. 도리어 상경 교감 신경절 제거 후 선조직 무게가 약간 증가하는데 이는 아마도 혈관의 긴장성 수축 소실에 따른 혈류량의 증가에 의한 것이라 생각된다. 결국 타액분비 조절에 부교감 신경이 더욱 중요하다 할 수 있겠지만 교감 신경 또한 일정한 기능을 하고 있음은 분명하다. 뿐만 아니라 두 신경계 사이에 기능적 차이가 있다. 부교감 신경 전기자극에 의해 많은 양의 장액성 타액이 분비되지만 교감 신경 자극시에는 단백질이 풍부한 소량의 끈끈한 타액이 분비된다. 이 때 부교감신경 자극시에는 분비세포의 탈과립을 볼 수 없으나 교감신경 자극시에는 선포세포와 과립성 도관 세포의 광범위한 탈과립이 일어난다<sup>20)</sup>.

선세포에서 분비된 일차 타액의 무기 성분 가운데 나트륨 농도는 140-150 mmol/L로서 세포외액에서의 나트륨 농도와 비슷하다. 그러나 나트륨은 선조직의 선조세관을 지나는 동안 재흡수가 일어나고, 따라서 선조세관에서의 타액 흐름이 느릴 때 특히 낮은 농도가 된다. 반대로 유속이 증가함에 따라 나트륨 농도는 혈장 수준까지 유지된다. 타액선 신경절제에 의해 선조직의 구조적 변화가 일어나는 것과 함께 타액의 분비량과 조성도 변화된다. 사람의 이하선에서 나트륨 이온과 염소 이온의 농도는 불균형적으로 높고 일차 타액과 비슷하다<sup>3)</sup>. 자율신경 절제 후 이차 타액에서 이 이온들의 농도가 높은 것을 볼 수 있는데 이는 신경이 정상적으로 선조직 도관의 상피세포에서 전해질 재흡수를 조절하고 있음을 암시한다.

이 연구에서 교감 신경 및 부교감 신경 절제 후 악하선에서 나트륨 운반체 발현은 특이하게 변화되었다. 즉 부교감 신경 절제시 악하선의 Na,K-ATPase  $\alpha$ 1 및  $\beta$ 1 소단위 발현이 감소된 반면 교감 신경 절제시 아무런 영향을 받지 않았다. 이와 같은 결과는 부교감신경 자극시 악하선 반월상 세포에서 Na,K-ATPase 발현

이 증가하나 교감신경 자극시에는 아무런 변화를 보이지 않은 기존의 연구결과<sup>5)</sup>와 일치한다.

타액선 선조세관에서 나트륨과 칼륨의 이동은 나트륨 재흡수에 관여하는 aldosterone에 의해 조절됨<sup>21)</sup>이 밝혀진 바 있으며 소엽내 도관의 내강측에 발현하는 나트륨 통로가 제안된 바 있다<sup>22)</sup>. 이 통로는 amiloride-sensitive이며, 나트륨 재흡수에 관련되어 있다. ENaC은 신장의 원위세뇨관, 원위부 결장, 폐, 타액선을 비롯한 외분비선 등에서 상피세포를 통한 나트륨 재흡수를 조절하는 율속과정이 된다<sup>10)</sup>. 신장 세뇨관에서 ENaC은 aldosterone과 vasopressin 같은 호르몬에 의해 조절되는 나트륨 재흡수를 매개한다<sup>14-17)</sup>. 따라서 Moran 등이 제안한 나트륨 통로는 ENaC일 것이라 생각된다. 이 연구에서 ENaC  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ - 소단위 발현은 고삭신경 절제 후 증가된 반면 교감 신경 절제 후 크게 변화되지 않았다. 즉 ENaC 발현이 호르몬에 의해서 뿐 아니라 타액선에서는 부교감 신경에 의해서도 영향을 받음을 시사하고 있다. 고삭신경 절제 타액선에서 분비된 타액에서 나트륨 농도가 감소된 것은 선의 ENaC  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ - 소단위 발현이 증가되고 따라서 도관에서 나트륨 재흡수 증가를 일으킨 결과라 생각된다.

타액 흐름이 빠른 경우 타액의 pH가 증가된다. 일찍이 Schmidt-Nielsen<sup>23)</sup>은 이하선에서 부교감 신경 자극에 의해 타액 분비가 증가되었을 때 타액의 pH가 증가하여 7.8에까지 이른다고 보고하였으며, Hildes와 Ferguson<sup>24)</sup>은 이를 사람의 이하선에서도 확인되었다. 즉 타액 흐름이 증가됨에 따라 타액내 중탄산염 농도가 증가되다가 점차 안정되어 흐름 증가에 의해 영향을 받지 않게 된다. 반대로 타액 흐름의 감소가 있을 때에도 수소 및 중탄산염 분비가 변화된다. 이 연구에서 악하선의 NHE3 발현은 교감 신경 및 고삭신경 절제 후 모두 크게 감소되었다. 비록 타액의 pH를 조사하지는 않았지만 도관에서 NHE3 감소가 있다면 일차 타액의 나트륨과 수소 이온 재흡수가 변화되고 타액의 pH 변화가 나타날 것이라 생각된다.

타액의 가장 많은 성분은 수분이다. 포유류 타액선에서 수분 이동의 통로가 되는 AQP 동형 가운데 AQP1, AQP3, AQP4, AQP5, AQP8이 관찰된다<sup>25-27)</sup>. 이들은 선조직을 지배하는 자율신경에 의해 조절되고<sup>28)</sup> 따라서 신경 활성의 변화에 의해 타액 분비율과 조성의 변화가 일어나게 된다. 그러므로 타액선 신경절제 후 나타나는 타액 무기물 성분의 변화는 AQP 조절 기전의 변조와도 관련되어 있으리라 생각된다. 실제로 Sj Øgren 증후군 등에서 보는 것처럼 타액선의 기능적, 형태적 변화가 나타나는 병적 상태에서 AQP 발현의 변화가 있음을 볼 수 있다

타액선에서 AQP1은 모세혈관 내피세포에 위치하고 혈장과 간질액 사이 수분 이동에 관여한다. 이 연구에서 AQP1 발현은 교감 신경 절제후 증가되는 반면 고삭신경 절제에 의해서는 영향을 받지 않았다. 따라서 교감 신경은 혈관에서 AQP1의 발현과 역할에 긴장성 억제효과를 가진다고 추측된다. 반면에 AQP4는 타액선 분비도관에 분포되어 있어서 도관과 간질액 사이의 수분 및 전해질 재흡수와 관련되어 있다. 이 연구에서 AQP4의 발현은 고삭신경 및 교감 신경 절제 후 크게 증가되었다. 타액선에서 AQP4 통로 발현이 증가된 것은 일차타액으로부터 도관을 지나는 동안 수분 재흡수가 증가될 수 있는 소지를 마련하여 결국 신경 절제 후 타액 형성이 감소된 것을 설명할 수 있다고 생각된다.

AQP3, AQP5와 AQP8은 타액선의 장액 및 점액선 세포에 존재하고 일차타액 형성시 선세포에서 관강내로의 수분 이동에 관여한다고 알려져 있다. AQP5가 소실된 유전자 조작 생쥐에서는 타액 분비 결핍을 보인다고 보고되었다<sup>31,32</sup>. AQP5는 선세포로부터 세포를 가로질러 도관의 내강 쪽으로 향하는 수분 이동의 통로가 되어 일차 타액 형성에 기여한다고 생각된다. 뿐만 아니라 흰쥐 이하선에서 교감 신경과 부교감 신경은 AQP5를 조절함이 시사되었다. 즉 acetylcholine 과 epinephrine은 각각 M3 무스카린성 수용체와  $\alpha 1$  아드레날린성 수용체에 작용하여 세포질 칼슘 농도를 높임으로써 내강측 세포막의 AQP5를 신속히 증가시킨다<sup>33,34</sup>. 이 연구에서 AQP5는 교감 신경 절제시에 영향을 받지 않으나 부교감 신경 절제시에는 크게 감소되었다. 부교감 신경 절제 후에는 AQP5 발현이 감소된 결과 선의 일차 타액 형성이 감소되고 결국 타액 분비 감소의 원인 되는 것이라 생각된다.

이상의 실험성적을 요약할 때 악하선을 지배하는 교감 신경 및 부교감 신경은 선의 나트륨 운반체 및 수분 통로 발현에 긴장성 조절함으로써 분비되는 최종 타액의 전해질 및 수분 조성에 중요한 기능을 함을 알 수 있다. 그리고 이 신경의 절제시 보이는 나트륨 운반체와 수분 통로의 변화는 기능적으로 신경 절제 타액선의 타액 분비량과 타액의 무기질 조성 변화의 원인이 될 것이다. 그러나 선조직내의 타액 흐름과 나트륨 운반체 변화 사이의 인과관계는 아직 더 연구해야 할 점이 많다.

## V. 요약

타액선에서 교감 신경과 부교감 신경이 나트륨 운반체와 수분 통로의 조절에 어떠한 기능을 하는지 알아 보고자 흰쥐 악하선을 지배하는 교감 신경과 부교감 신경을 절제하고 나서 타액선내 나트륨 운반체와 수분 통로의 발현을 조사하여 다음과 같은 성적을 얻었다.

1. Na,K-ATPase의  $\alpha 1$ ,  $\beta 1$  소단위는 교감 신경 절제에 의해 크게 영향받지 않았으나 부교감 신경 절제에 의해서는 두 소단위의 발현이 모두 감소되었다.

2. ENaC  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ - 소단위는 그 발현이 교감 신경 절제에 의해 영향 받지 않았으나 부교감 신경 절제에 의해서 도리어 증가하였다.

3. NHE3는 교감 신경 및 부교감 신경 절제에 의해 모두 크게 감소했다.

4. 교감 신경 절제시 AQP1의 발현이 크게 증가했으나, 부교감 신경 절제시 영향 받지 않았다.

5. 교감 신경 절제 및 부교감 신경 절제는 AQP4 발현을 크게 증가시켰다.

6. AQP5는 교감 신경 절제시 영향을 받지 않았으나, 부교감 신경 절제시 크게 감소되었다.

이상의 실험성적을 요약할 때 악하선을 지배하는 교감 신경 및 부교감 신경은 선의 나트륨 운반체 및 수분 통로 발현에 긴장성 조절을 영위함으로써 타액의 전해질 및 수분 조성을 결정하는 데 공헌함을 알 수 있다. 그리고 이 신경의 절제시 보이는 나트륨 운반체와 수분 통로의 변화는 기능적으로 신경 절제 타액선에서의 타액 분비량과 타액의 무기질 조성 변화의 원인이 될 것이라 생각된다.

## 참 고 문 헌

1. Emmelin N, Henriksson KG. Depressor activity of saliva after section of the chorda tympani. *Acta Physiol Scand* 1953;30:75-82.
2. Schneyer CA, Yu JH, Jirakulsomchok D: Calcium concentration of salivary glands and saliva after chemical or surgical sympathectomy. *J Auton Nerv Syst* 1983;8:171-177.
3. Levin SL, Khaikina LI: Is there neural control over electrolyte reabsorption in the human salivary gland? *Clin Sci(London)* 1987;72:541-548.
4. Speight PM, Chisholm DM. The relationship between localization of Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase and cellular fine structure in the rat parotid gland. *Histochem J* 1984;16:721-731.
5. Winston DC, Schulte BA, Garrett JR, Proctor GB. Na<sup>+</sup>, K(+)-ATPase in cat salivary glands and changes induced by nerve stimulation: an immunohistochemical study. *J Histochem Cytochem* 1990;38:1187-1191.
6. Peagler FD, Redman RS. Enzyme histochemical localization of Na,K-ATPase and NADH-DE in the developing rat parotid gland. *Anat Rec* 1999;256:72-77.
7. Luo X, Choi JY, Ko SB, Pushkin A, Kurtz I, Ahn W, Lee MG, Muallem S. HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> salvage mechanisms in the submandibular gland acinar and duct cells. *J Biol Chem* ;276:9808-16.
8. Roussa E. H<sup>+</sup> and HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> transporters in human salivary ducts. An immunohistochemical study. *Histochem J* 2001;33:337-344.
9. Knepper MA, Kim GH, Fernandez Llama P, Ecelbarger C. Regulation of thick ascending limb transport by vasopressin. *J Am Soc Nephrol* 1999;10:628-634.
10. Canessa CM, Schild L, Buell G, Thorens B, Gautschi I, Horisberger JD, Rossier BC. Amiloride-sensitive epithelial Na<sup>+</sup> channel is made of three homologous subunits. *Nature* 1994;367:463-467.
11. Bonvalet JP, Rossier B, Farman N. Distribution of amiloride-sensitive

- sodium channel in epithelial tissue. *C R Seances Soc Biol Fil* 1995;189:169-177.
12. Duc C, Farman N, Canessa CM, Bonvalet JP, Rossier BC. Cell-specific expression of epithelial sodium channel alpha, beta, and gamma subunits in aldosterone-responsive epithelia from the rat: localization by in situ hybridization and immunocytochemistry. *J Cell Biol* 1994;127:1907-1921.
  13. Hager H, Kwon TH, Vinnikova AK, Masilamani S, Brooks HL, Frokiaer J, Knepper MA, Nielsen S. Immunocyto-chemical and immunoelectron microscopic localization of alpha-, beta-, and gamma-ENaC in rat kidney. *Am J Physiol* 2001;280:F1093-F1106.
  14. Masilamani S, Kim GH, Mitchell C, Wade JB, Knepper MA. Aldosterone-mediated regulation of ENaC alpha, beta, and gamma subunit proteins in rat kidney. *J Clin Invest* 1999;104:R19-R23.
  15. Ecelbarger CA, Kim GH, Terris J, Masilamani S, Mitchell C, Reyes I, Verbalis JG, Knepper MA. Vasopressin-mediated regulation of epithelial sodium channel abundance in rat kidney. *Am J Physiol* 2000;279:F46-F53.
  16. Grunder S, Rossier BC. A reappraisal of aldosterone effects on the kidney: new insights provided by epithelial sodium channel cloning. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 1997;6:35-39.
  17. Loffing J, Loffing-Cueni D, Macher A, Hebert SC, Olson B, Knepper MA, Rossier BC, Kaissling B. Localization of epithelial sodium channel and aquaporin-2 in rabbit kidney cortex. *Am J Physiol* 2000;278:F530-F539.
  18. Emmelin N, Muren A, Strömblad R. Effects of anastomosis between the hypoglossal and chorda-lingual nerves on the supersensitivity of the denervated submaxillary gland. *Acta Physiol Scand* 1957;41:18-34.
  19. Strömblad BCR. Supersensitivity and amine oxidase activity in denervated salivary glands. *Acta Physiol Scand* 1956;36:137-153.
  20. Garrett JR, Suleiman AM, Anderson LC, Proctor GB. Secretory responses in granular ducts and acini of submandibular glands in vivo to parasympathetic or sympathetic nerve stimulation in rats. *Cell Tissue Res* 1991;264:117-126.

21. Blair-West JR, Coghlan JP, Denton DA, Wright RD. Effect of endocrines on salivary glands. In Handbook of Physiology, Section 6. Alimentary Canal. Vol II. Pp. 633-664, Washington DC: American Physiological Society, 1967.
22. Moran A, Davis VH, Turner RJ. Na<sup>+</sup> channels in membrane vesicles from intralobular salivary ducts. *Am J Physiol* 1995;268:C350-355.
23. Schmidt-Nielsen B. The pH in parotid and mandibular saliva. *Acta Physiol Scand* 1946;11:104-110.
24. Hildes JA, Ferguson MH. The concentration of electrolytes in normal human saliva. *Can J Biochem Physiol* 1955;33:217-225.
25. Koyama Y, Yamamoto T, Tani T, Nihei K, Kondo D, Funaki H, Yaoita E, Kawasaki K, Sato N, Hatakeyama K, Kihara I. Expression and localization of aquaporins in rat gastrointestinal tract. *Am J Physiol* 1999;276:C621-C627.
26. Gresz V, Kwon TH, Hurley PT, Varga G, Zelles T, Nielsen S, Case RM, Steward MC. Identification and localization of aquaporin water channels in human salivary glands. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2001;281:G247-G254.
27. Hoque AT, Yamano S, Liu X, Swaim WD, Goldsmith CM, Delporte C, Baum BJ. Expression of the aquaporin 8 water channel in a rat salivary epithelial cell. *J Cell Physiol* 2002;191:336-341.
28. Jimi T, Wakayama Y, Murahashi M, Shibuya S, Inoue M, Hara H, Matsuzaki Y, Uemura N. Aquaporin 4: Lack of mRNA expression in the rat regenerating muscle fiber under denervation. *Neurosci Lett* 2000;291:93-96.
29. Beroukas D, Hiscock J, Jonsson R, Waterman SA, Gordon TP. Subcellular distribution of aquaporin 5 in salivary glands in primary Sjogrens syndrome. *Br J Rheumatol* 2001;34:326-333.
30. Steinfeld S, Cogan E, King LS, Agre P, Kiss R, Delporte C. Abnormal distribution of aquaporin-5 water channel protein in salivary glands from Sjogrens syndrome patients. *Lab Invest* 2001;81:143-148.
31. Ma T, Song Y, Gillespie A, Carlson EJ, Epstein CJ, Verkman AS.



- Defective secretion of saliva in transgenic mice lacking aquaporin-5 water channels. *J Biol Chem* 1999;274:20071-20074.
32. Krane CM, Melvin JE, Nguyen HV, Richardson I, Towne JE, Doetschman T, Menon AG. Salivary acinar cells from aquaporin 5-deficient mice have decreased membrane water permeability and altered cell volume regulation. *J Biol Chem* 2001;276:23413-23420.
33. Ishikawa Y, Eguchi T, Skowronski MT, Ishida H. Acetylcholine acts on M3 muscarinic receptors and induces the translocation of aquaporin5 water channel via cytosolic  $Ca^{2+}$  elevation in rat parotid glands. *Biochem Biophys Res Commun* 1998;245:835-40.
34. Ishikawa Y, Skowronski MT, Inoue N, Ishida H. 1-Adrenoceptor-induced trafficking of aquaporin-5 to the apical plasma membrane of rat parotid cells. *Biochem Biophys Res Commun* 1999;265:94-100.

#### 저자연락처

우편번호 501-757

광주광역시 동구 학동 5번지

전남대학교 치과대학 구강악안면외과학교실

유 선 열

E-mail : ryu-suny@hanmail.net

#### Reprint requests

Sun-Youl Ryu

Dept. of OMFS, College of Dentistry, Chonnam National University

5 Hak-Dong, Dong-Ku, Gwangju, 501-757, South Korea

Tel. 82-62-220-5439 Fax. 82-62-228-8712

E-mail: ryu-suny@hanmail.net