

Puromycin을注射한白鼠에 있어서 Pilocarpine이 顎下腺細胞에 미치는影響에 관한研究

서울大學校 齒科大學 口腔解剖學教室

劉 鍾 德

I. 緒 論

Puromycin은 蛋白質合成을 妨害하며, 其 機轉은 蛋白質合成過程에 있어서 Binding Inhibitors로서 活性 Amino 酸이 特殊 S-RNA와의 結合을 妨害하기 때문이다.

Pilocarpine Hydrochloride는 Choline 効能藥(Cholinergics)이고, 主로 Muscarine 樣作用이 있고, 副交感神經節後纖維를 흥분시키며, 唾液分泌 및 한선분비를 심히 촉진하여 痰과 唾液이 많아짐으로 발한약 또는 거담약(Expectorant)이다.

Pilocarpine은 唾液分泌를 促進하므로, 唾液의 Chemical Composition을 알기 위하여 한 동안은 動物實驗에 많이 利用되어 왔다.

最近에는 抗癌劑를 動物에 注射하여 諸器官의 肉眼的, 組織學的變化를 調査하고 있는데, 特히 이런 抗癌劑를 動物에 注射한 경우에 唾液腺이나 胰臟細胞에 副作用 即 細胞內에 Zymogen Granules가 蓄積하게 된다. 이렇게 細胞內에 蓄積된 Zymogen Granules를 細胞外로 流出시키는方法으로서 Pilocarpine을 使用하고 있다. 本研究은 抗癌劑인 Puromycin을 白鼠에 注射하여 顎下腺細胞內의 Zymogen Granules의 蓄積與否를 調査하고, 아울러 Pilocarpine이 Puromycin을 注射한 白鼠顎下腺細胞에 어떠한 影響을 미치는가를 調査한 것이고, 其結果를 이에 報告하는 바이다.

II. 實驗材料 및 方法

實驗材料: 實驗動物은 體重 20gm 內외의 雄性白鼠36頭를 使用하였고, 이中 對照群에는 12頭, Puromycin 注射群에는 12頭, Puromycin + Pilocarpine注射群에는

12頭式을 各各 配定하였다.

實驗方法:

Puromycin Dihydrochloride를 體重 80mg/kg을 24時間 間隔으로 2回腹腔內注射하고, Puromycin + Pilocarpine注射群에는 犧牲 4時間과 2時間前에 體重 0.5mg/kg을 2회에 걸쳐서 注射를 하였다.

注射完了 다음날을 第1日로하여 犧牲時間을 4群(4日, 10日, 15日)으로 區分하고, 體重을 測定하고, Ether로 麻醉後 顎下腺을 떼어내고, 其의 重量을

Table 1 Body Weight (g) of Mice

Day	Control	Puromycin	Puromycin + Pilocarpine
4	21.5	20.4	21.2
6	22.9	18.7	19.1
10	24.1	16.4	17.0
15	25.8	18.6	19.4

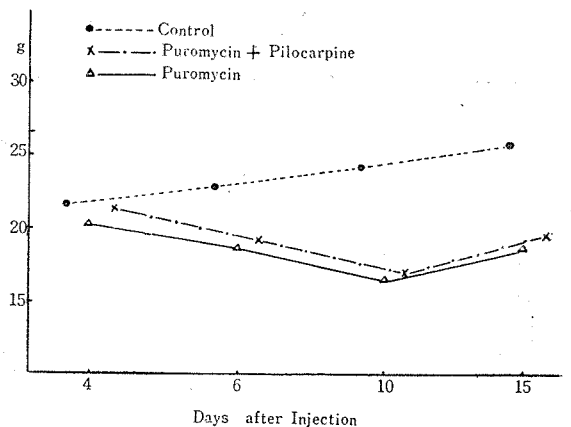


Fig. 1 Body Weight of Mice

測定하였다.

組織標本製作 : 배어낸顎下腺을 2% Paraformaldehyde in Cacodylate Buffer에 3時間固定하고, 固定된組織은 1%, 3% Parlodion in Benzoate 및 Paraffin 二重包埋를 眞空包埋法으로 하였다. Rotary Microtome 을 使用하여 4 μ 의 切片을 만들었다. 이를 Toluidine Blue 0로 染色하여 檢鏡하였다. 여기에서 얻은 數値의 統計的處理로는 算術平均(M), 標準偏差(S.D.), 有意性檢査(P) 및 百分比(%)를 各各 算出하였다.

III. 實驗成績

1. 實驗動物體重의 變動 :

第1表 및 第1圖에서 보는 바와같이 Puromycin+Pilocarpine注射群에는 第4日에는 對照群과 비슷하나 其以後 부터는 體重이 減少되고, 第10日이 가장 極甚하고, 第10日以後부터는 回復하기 始作하나 第15日에도 아직 對照群值에는 未及하였다. Puromycin注射群은 Puromycin+Pilocarpine 注射群과 同一한 變化를 보이고 있다.

Table 2 Weight of Submandibular Gland of Mice (mg)

Day	Puromycin			Puromycin+Pilocarpine		
	Mean \pm (S.D.)	Probability	% of Control	Mean \pm (S.D.)	Probability	% of Control
4	97.2 (9.4)	>0.2	99.3	96.4 (13.1)	>0.1	98.5
6	100.8 (8.6)	<0.05	102.2	92.8 (10.4)	>0.04	94.8
10	110.3 (11.3)	<0.05	103.3	85.2 (12.6)	<0.001	87.1
15	97.2 (8.2)	<0.3	99.3	95.6 (11.3)	>0.1	97.7

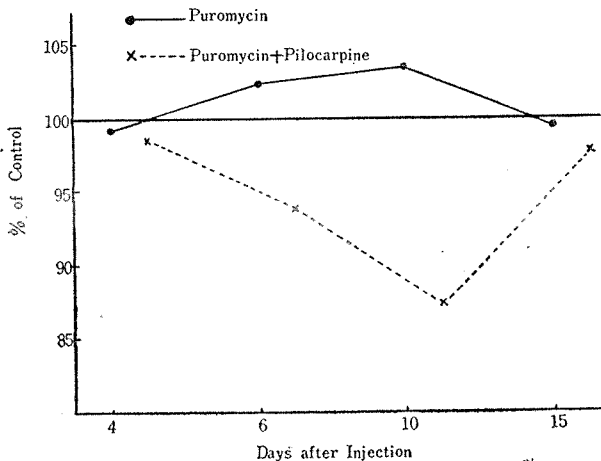


Fig. 2 Percent Change in Weight of Submandibular Gland of Mice

2. 顎下腺重量的 變動 :

第2表 및 第2圖에서 보는 바와 같이 Puromycin注射群의 顎下腺重量은 第10日까지 增加하다가 其以後부터는 減少하며 Puromycin+Pilocarpine注射群에는 오히려 第10日까지는 減少하다가 其以後부터는 增加됨을 알수가 있었다.

3. 顎下腺의 組織學的觀察

Puromycin을 注射한 群에는 全 時期를 通하여 顎下腺細胞內에 Zymogen Granules가 桴 차 있었고, Puromycin과 Pilocarpine 注射群에 있어서는 Zymogen Granules의 數가 對照群의 것보다 적었다.

IV. 總括 및 考察

癌의 治療에 도움을 주고자 요사이 動物에 抗癌劑를 注射하여 實驗하고 있다. 이러한 抗癌劑가 癌의 特徵인 自律的成長은 抑制케하나, 이藥으로 因하여 隨伴되는 副作用 即 消化障礙, 腸內出血, 鼻出血, 腺細胞內 Zymogen Granules의 蓄積 等の 問題에 對하여는 아직 研究中에 있다.

本研究는 上記한 副作用 中 腺細胞內에 蓄積된 Zymogen Granules가 Pilocarpine으로 腺細胞外로 放出할 수 있었는가를 實驗한것이다.

本實驗의 成績을 綜合하면 體重의 變動은 Puromycin 注射群이나 Puromycin+Pilocarpine 注射群도 모두 第10日까지는 減少하다가 其以後부터는 增加를 보였고, 顎下腺의 重量은 Puromycin注射群은 增加하다가 다시 減少하나 Puromycin+Pilocarpine 注射群은 오히려 減少하다가 增加하였다. 組織學的의 所見은 Puromycin注射群은 細胞內에 Zymogen Granules가 桴 차있었으나 Puromycin+Pilocarpine群은 對照群의 것보다 많이 減少되어있었다.

Martin外 2人(1969)⁹⁾은 5-fluorouracil에 依하여 十臟細胞內의 Zymogen Granules가 蓄積하는데, 이 副作用을 해결하기 위하여 Pilocarpine을 使用하였는데 別로 效果가 없었다고 하였고, Hanzon 外 1人(1954)⁹⁾은 Pilocarpine에 依하여 十臟의 Mitochondria에는 아무런 變化를 惹起하지 않았다고 하였고, Daly外 1人(1952)⁹⁾은 Pilocarpine은 Acinar Secretion에 항상 Stimulator로서의 效果가 있는 것이 아니라고 하였고 Porter(1954)¹⁴⁾는 Pilocarpine에 依하여 Mouse Partid Gland의 Zymogen Granules의 Degranulation을 惹起한다고 하였다.

金外 2人(1970)¹⁰⁾은 5-fluorouracil에 依하여 Acinar Cells內에 Zymogen Granules가 蓄積된다고 하였고, 이 蓄積된 Zymogen Granules가 Lumen內로 放出케 하

하기 위하여 Pilocarpine을 사용하였는데, 唾液腺에는 影響을 미치나 腺臟에는 影響을 미치지 못하였다고 하였다.

V. 結 論

體重 20gm內외의 雄性白鼠 36頭를 使用하였고, 이中 對照群, Puromycin注射群, Puromycin+Pilocarpine注射群에 各各 12頭式 配定하고, Puromycin Hydrochloride를 體重 80mg/kg을 24時間 間隔으로 2回 腹腔 內注射하고, Puromycin+Pilocarpine注射群에는 犧牲 4時間과 2時間前에 體重 0.5mg/kg을 2回에 걸쳐서 注射 하였다. 注射完了 다음날을 第 1日로하여 犧牲時間을 4群 (4日, 6日, 10日, 15日)으로 區分하고, 먼저 體重을 測定하고, 다음에 顎下腺을 떼어내어 其의 重量을 調査하였다.

其 結果는 다음과 같다.

1. Puromycin과 Pilocarpine을 注射한 群에 있어서 顎下腺의 重量은 全 時期를 通하여 Puromycin 單獨注射群보다 減少되었다.

2. Puromycin+Pilocarpine群에 있어서 顎下腺細胞 內의 Zymogen Granules의 數는 Puromycin 單獨注射群보다 적었다.

3. 그러므로 Pilocarpine은 Puromycin에 依하여 顎下腺의 Acinar cell 內에 蓄積되어 있는 Zymogen Granules를 lumen內로 放出하는데 效果가 있는 것 같다.

REFERENCES

- 1) Cohen, H.D.: Puromycin and Cycloheximide. Science. 154:1557-1558, 1969.
- 2) Darken, M.A.: Puromycin Inhibition of Protein Synthesis. Pharmacol. Rev. 16:223-243, 1964.
- 3) Dawes, C.: The Composition of Human Saliva Secreted in Response to a Gustatory Stimulus and to Pilocarpine. J. Physiol. 183:360-368, 1966.
- 4) Diamant, B. et 2: The Salivary Secretion in Man under The Influence of Intravenously Infused Acetyl-Beta-Methylcholine Iodide. Archs Int. Pharmacodyn. 111:86-97, 1957.
- 5) Daly, M.M. et 1: Formation of Protein in the Pancreas. J. Gen. Physiol. 36:243-254, 1952.
- 6) Estensen, R.D. and Baserga, R.: Puromycin Induced Necrosis of Crypt Cells of the Small Intestine of Mouse. J. Cell Biol. 30:13-22, 1966.
- 7) Ericson, S.: An Investigation of Human Parotid Saliva Secretion Rate in Response to Different Types of Stimulation. Archs Oral Biol. 14:591-596, 1969.
- 8) Huh, J.: An Autoradiographic Study of Effects of Puromycin on Protein Synthesis of Submandibular Gland of Mice Using Leucine-C¹⁴. New Med. J. 14:55-62, 1971.
- 9) Hanzon, V.: Membrane Structures of Cytoplasm and Mitochondria in Exocrine Cells of Mouse Pancreas as Revealed by High Resolution Electron Microscopy. Exp. Cell Res. 7:393-414, 1954.
- 10) Kim, M.K. et 2: Effect of Pilocarpine and Synthetic Polynucleotides on Weights of Digestive Glands of Mice Injected with 5-fluorouracil. Korean. J. Anat. 3:49-56, 1970.
- 11) Kugler, J.H. et 3: The Effects of 5-fluorouracil on the Storage and Secretion of Pancreatic Lipase and Zymogen Granules. J. Physiol. 190:42-44, 1967.
- 12) Longnecker, D.S. and Farber, E.: Acute Pancreatic Necrosis Induced by Puromycin. Lab. Invest. 16:321-329, 1967.
- 13) Martin, B.F. et 2: A Light and Electron Microscope Study of the Exocrine Pancreas Following Administration of 5-fluorouracil. J. Anat. 104:93-107, 1969.
- 14) Porter, K.R.: Electron Microscopy of Basophilic Components of Cytoplasm. J. Histochemistry. 2:346-373, 1954.
- 15) Studzinski, G.P.: Inhibition by Puromycin of Incorporation of Tritiated Uridine into Nuclear and Cytoplasmic Ribonucleic Acids. Nature 213:403-404, 1967.
- 16) Schneyer, C.A. and Hall, H.D.: Autonomic Pathways Involved in a Sympathetic Like Action of Pilocarpine on Salivary Composition. Proc. Soc. Exp. Biol. 121:96-100, 1966.
- 17) Schneyer, C.A. and Hall, H.D.: Comparison of Rat Salivas Evoked by Auriculotemporal and Pilocarpine Stimulation. Am. J. Physiol. 209:484-488, 1965.
- 18) Waterhouse, J.P. and Williams, R.A.D.: Some Carbohydrate-containing Components of the Pa-

rotid Gland and Pilocarpine-stimulated Parotid Saliva of the Rat. *Archs Oral Biol.* 12:99-108.
19) Yoshimura, H.: *Secretory Mechanism of the*

Saliva and Nervous Control of Its Ionic Composition. Secretory Mechanisms of Salivary Glands Academic Press, 56-74, 1966.

.....> **Abstract** <.....

STUDIES ON THE EFFECTS OF PILOCARPINE ON SUBMANDIBULAR GLAND CELLS INJECTED WITH PUROMYCIN

Chong Duck Yoo

College of Dentistry, Seoul National University.

Body weight and weight of submandibular gland of mice given sublethal doses of puromycin were studied after Pilocarpine.

1. Body weight showed a significant decrease during the first 10 days after puromycin alone.
2. Injections of pilocarpine abolished the increase in glandular weight of the submandibular gland.
3. This was thought to indicate the possibility that the increase in organ weight might be due to the inability of the organs to release synthesized secretory products.

—寫真附圖說明—

Fig. 1. Control of submandibular gland on day 10

Fig. 2. Experimental submandibular gland on day 10
indicates a large increase in the secretory granules.

劉鍾德 論文 寫真附圖

