

## 리스페리돈이 타액선 세포에 미치는 영향

이연주 · 김영재 · 김정욱 · 장기택 · 김종철 · 한세현 · 이상훈

서울대학교 치과대학 소아치과학교실 및 치학연구소

### 국문초록

리스페리돈(risperidone)은 세계적으로 가장 널리 처방되고 있는 정신분열증 치료제로서 소아자폐증의 선택약물로 FDA 승인을 받았으며 틱장애, 뚜렛장애의 치료제로도 쓰이고 있다. 치과와 관련된 리스페리돈의 이상반응으로 구강건조가 보고되고 있으며 그 기전은 밝혀지지 않은 상태이다. 본 연구의 목적은 리스페리돈이 타액분비 기전의 중요한 요소인 세포내 칼슘농도에 미치는 영향을 세포수준에서 밝히고자 하는 것이다.

세포내 칼슘농도를 측정하기 위해 Human salivary gland cell line(HSG)에 Fura-2/AM을 세포내로 부하한 뒤 340 및 380 nm의 파장으로 교대로 여기시킬 때 방출되는 형광강도를 500 nm 파장에서의 비율로 측정하였다. 각 실험 후 형광강도의 비율을 실제 세포내 칼슘농도로 보정하기 위한 calibration 실험을 시행하였다. 카바콜, ATP, 히스타민을 처리하여 세포내 칼슘농도의 변화를 측정하고 리스페리돈의 전처리기에 미치는 효과를 비교하였으며 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. HSG에서 카바콜, ATP, 히스타민 처리로 인해 세포내 칼슘농도가 증가하였으며 리스페리돈을 전처리한 경우 카바콜과 ATP의 작용에는 영향을 주지 않았으나 히스타민의 작용을 억제하였다.
2. HSG의 세포내 칼슘 변화에 미치는 히스타민의 효과는 농도의존적인 양상을 보였으며 50% 유효농도(EC<sub>50</sub>)는  $3.3 \pm 0.5 \mu\text{M}$ 이었다.
3. 히스타민에 의한 HSG에서 칼슘 변화에 미치는 리스페리돈의 저해 효과는 농도의존적인 양상을 보였으며 대조군의 효과를 50% 억제하는 농도(IC<sub>50</sub>)는  $104.4 \pm 14 \text{ nM}$ 로 리스페리돈의 적정혈중농도 이하에 해당되었다.
4. 리스페리돈은 히스타민에 의한 소포체에서의 칼슘 유리와 세포 밖 칼슘 유입을 모두 유의성 있게 억제하였다 ( $p < 0.05$ ).

항정신병 약물은 장기간 복용하고 적정혈중농도가 계속 유지되기 때문에 이러한 약물이 타액분비감소를 일으킬 경우 다발성우식증 등 심각한 치과적 질환을 야기할 수 있으므로 이에 대한 예방 및 치료방안이 필요하리라 사료된다.

**주요어** : 리스페리돈, 타액선 세포, 세포내 칼슘농도, 히스타민, 카바콜, ATP

### I. 서 론

리스페리돈(risperidone)은 세계적으로 가장 널리 처방되고 있는 정신분열증 치료제로서, 2003년에서 2004년까지의 미국 소아청소년 정신과 외래환자에게 처방된 약물의 빈도를 조사한 결과 리스페리돈이 전체 약물의 44%를 차지하여 처방빈도가 가장 높았다<sup>1)</sup>. 2006년 10월에는 소아 및 성인의 자폐증 증상을 치료하기 위한 1차 약물로 FDA의 승인을 받았으며<sup>2)</sup> 틱장

교신저자 : 이 상 훈

서울시 종로구 연건동 28-1  
서울대학교 치과대학 소아치과학교실  
Tel: 02-2072-2680  
E-mail: musso@snu.ac.kr

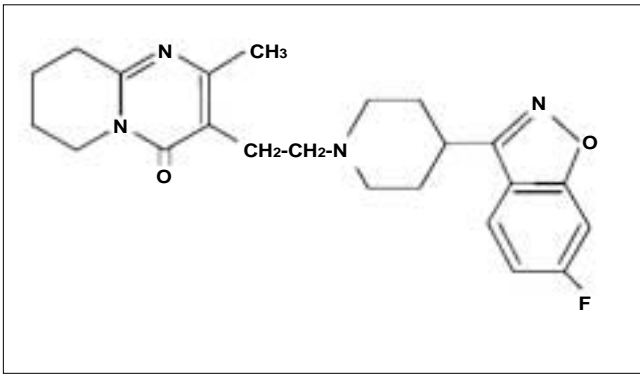


Fig. 1. The chemical structure of risperidone.

에, 뚜렛장애의 치료제로도 쓰이고 있다. 리스페리돈(Fig. 1)은 benzisoxazole 유도체로서 serotonin 5-HT 1A 및 2A 그리고 dopamine D<sub>2</sub> 수용체(receptor)에 친화성을 나타낸다.

기존의 전형적 항정신병 약물(typical antipsychotics)과 비교 시 내약성(tolerance)이 우수하고 콜린 동작성 수용체에 친화성이 없으며 추체의로증상(extrapyramidal symptoms)의 발현빈도와 심한 정도가 유의하게 낮은 것으로 알려져 있다<sup>3-6)</sup>. 리스페리돈의 이상반응으로 치과와 관련된 것으로 추체의로증상에 의한 타액분비과다 또는 침흘리기<sup>7-16)</sup> 그리고 그 기전이 밝혀지지 않은 구강건조 등이 보고되고 있다<sup>17-22)</sup>.

타액분비가 저하되어 일어나는 구강건조증은 장기간 지속될 경우 다발성우식증과 같은 심각한 비가역적 손상을 줄 수 있다. 구강건조증의 대표적 원인으로는 쇼그렌 증후군(Sjögren's syndrome), 방사선 치료 후유증, 외인성 약물 등을 들 수 있다. 외인성 약물에 의한 구강건조증은 타액선 자체에는 아무런 문제가 없는데도 다른 질병을 치료하기 위해 투여한 약물들이 타액선에 작용하여 타액분비의 감소를 일으키는 것으로, 구강건조증의 가장 큰 원인으로 보고되고 있으며 약 500여종 이상의 약물이 구강건조증을 일으킨다고 알려져 있다<sup>23-27)</sup>. 이처럼 많은 약물들이 그 부작용으로 구강건조를 명시하고 있지만 그 약물들이 어떻게 타액분비에 영향을 주는가에 대해서는 많은 연구가 이루어지지 않고 있다. 리스페리돈도 그와 같은 약물 중의 하나로 제조사에서 발표한 임상시험 결과 및 국내 시판 후 조사결과에 의한 약물의 부작용으로 구강건조를 명시하고 있지만 그 작용기전은 밝혀지지 않은 상태이다.

타액분비는 크게 두 가지 경로로 이루어진다. Transcellular pathway는 물을 통과시키는 채널인 aquaporin이 자극에 의해 선강막에 장착되어 물이 통과되는 경로이며, paracellular pathway는 다양한 세포막수송체에 의한 여러 가지 이온의 교환이 일어나고 결국 염소이온이 선강(lumen) 쪽으로 배출되며 이때 나트륨이온과 물이 세포간극을 통해 빠져나가는 경로이다<sup>28-30)</sup>. 따라서 어떤 외인성 약물의 기전의 효과를 살펴보면 과연 이 두 가지 경로에 관련된 신호전달 기전은 무엇이고 이들을

조절하는 인자는 무엇이며 그 기전은 어떠한 것인지 등을 살펴 보아야 한다. 타액선의 분비활동은 신경세포와 외분비 세포간의 일련의 정보전달과정을 통한 자율신경활동에 의해 조절된다. 수분과 전해질의 이동은 일차적으로 부교감신경과 교감신경의 말단에서 분비되는 신경전달물질이 세포막에 존재하는 수용체에 작용하여 세포내 칼슘이온의 농도를 높여줌으로써 가능해진다. 세포내 칼슘은 타액선 세포를 비롯한 여러 외분비선에서 분비기전에 대단히 중요한 매개체 중 하나로 칼슘농도의 증가는 신경전달물질이 수용체에 결합했을 때 유도된다. 아세틸콜린(acetylcholine), 카바콜(carbachol), 필로카르핀(pilocarpine) 등은 사람 타액선에 존재하는 대표적인 수용체인 무스카린-콜린 동작성 수용체(muscarinic cholinergic receptor)를 매개로 하여 inositol triphosphate(IP<sub>3</sub>)의 생성을 증가시키고, IP<sub>3</sub>는 소포체(endoplasmic reticulum)와 같은 세포내의 칼슘저장고로부터 칼슘이온을 유리시켜 세포질내의 칼슘이온 농도를 높여 준다. 퓨린 동작성 수용체(purinergic receptor)는 ATP와 같은 nucleotide에 반응하여 세포내 칼슘을 증가시킨다. 세포내 칼슘이온 농도의 증가는 세포막에 존재하는 각 이온통로를 직, 간접적으로 활성화시켜 전해질의 이동이 이루어지게 하며 paracellular pathway와 transcellular pathway를 모두 자극한다<sup>28-31)</sup>. 어떤 외인성 약물이 이러한 기전 중 하나 이상을 제어한다면 이는 바로 타액 분비의 변화로 이어지며 다른 목적을 가지고 투여된 약물이 직간접적으로 타액선에 작용하여 분비에 영향을 줄 수 있다. 하지만 많은 약물들의 타액선 작용 기전이 명확하지 않으며 타액분비 억제 기전이 기존에 알려진 약물의 작용기전과 상이한 경우가 대부분이다. 리스페리돈의 경우에도 타액선에 존재하지 않는 기전에 작용하는 약물임에도 불구하고 타액선에 영향을 주는 것으로 알려져 있다.

따라서 본 연구에서는 리스페리돈이 과연 어떠한 타액선내 작용 타겟과 기전을 가지는가를 알아보기 위해 사람 타액선 세포 수용체의 대표적인 효능제(agonist)인 카바콜과 최근 강력한 칼슘농도 증가 인자로 주목받고 있는 ATP와 히스타민을 처리하여 이들이 세포내 칼슘농도에 미치는 영향을 살펴보고 리스페리돈의 전처리시와 비교하여 리스페리돈이 타액선 기능 혹은 타액 분비에 미치는 영향을 세포수준에서 밝히고자 하였다.

## II. 연구 재료 및 방법

### 1. 연구 재료

Modified Eagle's Medium, bovine calf serum, penicillin/streptomycin, 그리고 trypsin-EDTA는 GIBCO (Boston, MA, USA)에서 구입하였으며 Fura-2 acetoxymethyl ester(Fura-2/AM)는 Molecular Probes (Eugene, OR, USA)에서 구입하였다. 카바콜(carbachol), adenosine 5'-triphosphate(ATP), 그리고 히스타민(histamine)은 Sigma Chemical Co.(St. Louis, MO, USA)에서

구입하였으며 리스페리돈은 MP biomedical(Irvine, CA, USA)에서 구입하였다.

## 2. Human salivary gland cell line(HSG) 배양

사람 타액선 모델 세포주인 HSG를 Modified Eagle's Medium에 10% Bovine Calf Serum과 1% penicillin (5000 U/mL) + streptomycin (5000 µg/mL)을 첨가한 배지에서 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 배양기에서 배양하였다. 일주일에 한 번씩 계대 배양(subculture)하고 1~2일에 한 번씩 배지를 교체하였다.

## 3. 세포내 칼슘농도([Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>) 측정

계대배양을 시행한 지 3~4일이 되어 90~100%의 confluency를 보이는 세포를 phosphate buffered saline/glucose(2.6 mM KCl, 1.5 mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 0.5 mM MgCl<sub>2</sub>, 136 mM NaCl, 8 mM Na<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 5.5 mM glucose, pH 7.4)로 세척하고 0.01% trypsin/0.1 mM EDTA로 처리하여 세포를 바닥으로부터 분리시켰다. 세포부유액을 800 rpm에서 5분간 원심분리하여 세포만을 얻은 후 serum-free medium을 4 mL 첨가하고 형광물질인 2 µM Fura-2/AM을 첨가하였다. 37°C에서 45분간 휘저어(stirring) Fura-2/AM이 세포내로 들어가게 한 후 세포 밖의 잔여 Fura-2/AM을 제거하기 위해 serum-free medium을 첨가하고 200 rpm에서 10초씩 2번 원심분리하여 세포만을 얻었다. 세포내로 들어간 Fura-2/AM이 세포 밖으로 빠져 나오지 못하도록 실험에 사용한 모든 용액에 250 µM의 sulfinpyrazone을 첨가하였다. Fura-2/AM이 세포내로 부하된 후에는 세포내에 존재하는 esterase에 의해 가수분해가 일어나 유리형태의 Fura-2가 되는데, 이것이 Ca<sup>2+</sup>과 결합하면 Fura-2의 여기(勵起; excitation) 형광 분광상(spectrum) 변화를 유발하여 340 nm에서의 형광강도(flourescence)는 점차로 증가하고 380 nm에서의 형광강도는 반대로 감소하게 된다. 표준용액(standard solution)은 Locke's solution(154 mM NaCl, 5.6 mM KCl, 1.2 mM MgCl<sub>2</sub>, 2.2 mM CaCl<sub>2</sub>, 5 mM HEPES, 10 mM glucose, pH 7.3)을 사용하였으며 Ca<sup>2+</sup>-free 용액의 경우에는 Ca<sup>2+</sup>-free Locke's solution(158.4 mM NaCl, 5.6 mM KCl, 1.2 mM MgCl<sub>2</sub>, 5 mM HEPES, 10 mM glucose, pH 7.3)에 300 µM EGTA를 첨가하였다.

Spectrofluorophotometer(SCHIMADZU RF-5301PC, Shimadzu Corp., Japan)를 사용하여 세포내 칼슘농도를 측정하였다. Fura-2가 부하된 균질의 세포부유액 1 mL를 stirring bar가 들어있는 quartz cuvette에 옮긴 후 340 및 380 nm의 파장으로 교대로 여기시킬 때 방출(emission)되는 형광강도를 500 nm의 파장에서의 비율(ratio)로 측정하였다. 각 실험 후 형광강도의 비율을 실제 세포내 칼슘농도로 보정하기 위한 calibration 실험을 시행하였다. 실제 세포내 칼슘농도는

다음 식을 통해 구하였다<sup>32,33</sup>.

$$[Ca^{2+}]_i = K_d \cdot (R - R_{min}) / (R_{max} - R) \cdot S_{f2} / S_{b2}$$

K<sub>d</sub>: Fura-2와 Ca<sup>2+</sup>의 해리상수, 224

R: 340 nm와 380 nm를 교대로 주사하여 얻은 형광강도의 비율

R<sub>min</sub>: 0.5 M EGTA 8 µL, 1 M Tris-base 30 µL, Triton-X 10 µL를 첨가하여 칼슘을 완전히 제거하였을 때의 형광강도의 비율

R<sub>max</sub>: 1 M CaCl<sub>2</sub> 4 µL를 첨가하여 칼슘으로 포화된 상태에서의 형광강도의 비율

S<sub>f2</sub>: 칼슘을 완전히 제거한 상태에서 380 nm를 주사했을 때 형광강도

S<sub>b2</sub>: 칼슘으로 포화된 상태에서 380 nm를 주사했을 때 형광강도

카바콜 1 mM, ATP 300 µM, 히스타민 100 µM을 처리하여 세포내 칼슘농도의 변화를 측정하고 리스페리돈 3 µM의 전처리가 이에 미치는 효과를 비교하였으며 각 시약의 농도는 유효 혈중농도를 기준으로 하였다<sup>34,35</sup>.

세포내 칼슘농도의 변화가 소포체에서의 칼슘의 유리(release)에 의한 것인지 세포막 칼슘의 유입(influx)에 의한 것인지를 보기 위해 Ca<sup>2+</sup>-free 용액에서 실험을 시행하였다. Ca<sup>2+</sup>-free 용액에서 시약을 처리한 후 칼슘농도의 변화를 관찰하고 2~3분 후 4 mM CaCl<sub>2</sub>를 처리한 후 칼슘농도의 변화를 관찰하였다.

## 4. 자료분석

동일한 실험을 3회 이상 독립적으로 시행하였다. 모든 자료는 평균(mean)과 표준오차(standard error of mean; SEM)로 표현하였으며 두 군의 차이는 Student t-test를 시행하여 분석하였다(p<0.05). 50% 유효농도(EC<sub>50</sub>)와 대조군의 효과를 50% 억제하는 농도(IC<sub>50</sub>)는 Microcal Origin version 6.0(Microcal Software, Inc., Northampton, USA)을 사용하여 대수 농도(log concentration)-반응 곡선으로부터 구하였다.

## Ⅲ. 연구성적

### 1. 카바콜, ATP, 히스타민이 세포내 칼슘농도에 미치는 영향과 리스페리돈의 전처리가 이에 미치는 영향

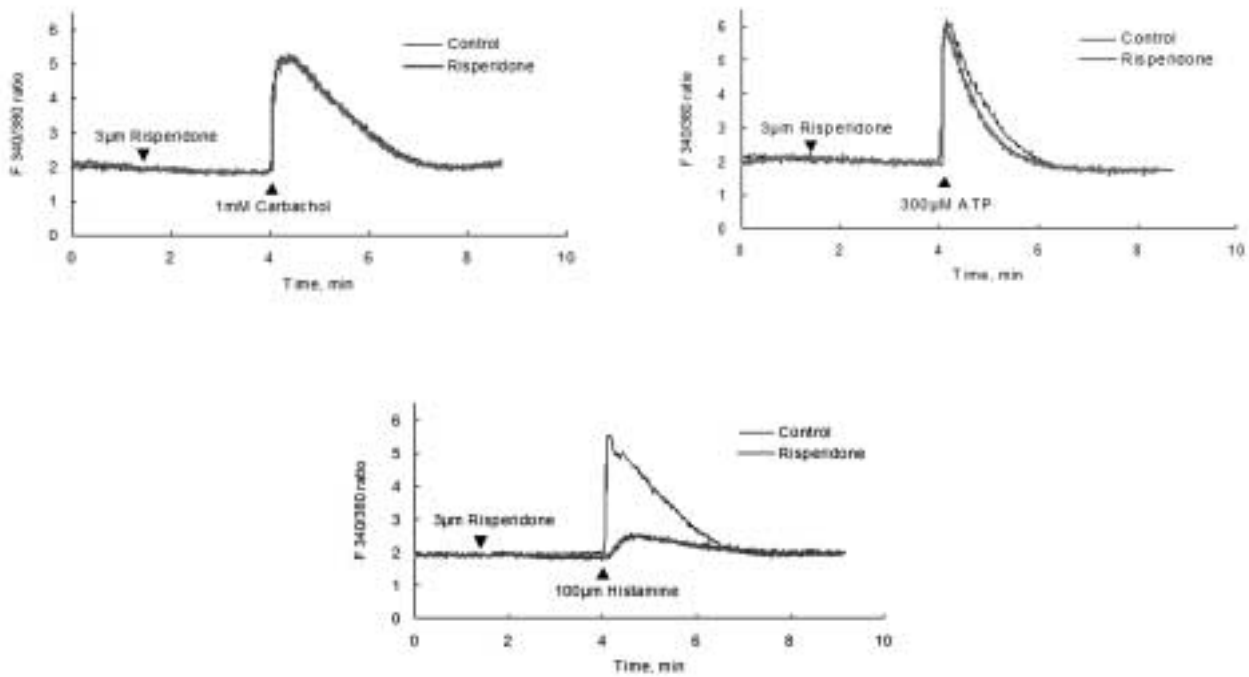
HSG에 카바콜 1 mM, ATP 300 µM, 히스타민 100 µM을 처리했을 때 세포내 칼슘농도가 증가하였으며 3 µM의 리스페리돈을 전처리한 경우 카바콜과 ATP의 작용에는 영향을 주지 않았으나 히스타민의 작용을 억제하였다(Fig. 2).

2. 히스타민의 농도에 따른 세포내 칼슘농도의 변화

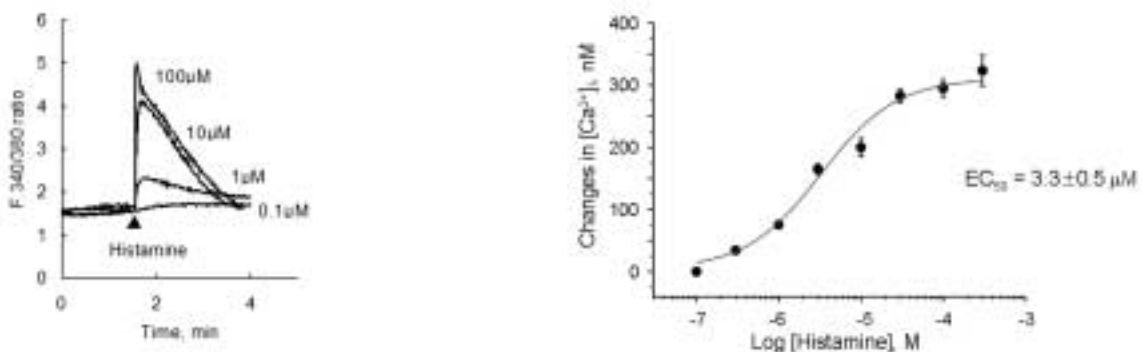
HSG에 히스타민을 처리하였을 때 농도에 따라 세포내 칼슘 농도가 증가하였으며 대수 농도-반응 곡선은 sigmoidal curve로 나타났다(Fig. 3). EC<sub>50</sub>은 3.3±0.5 μM이었다.

3. 히스타민에 의한 HSG에서의 칼슘 변화에 리스페리돈의 농도가 미치는 영향

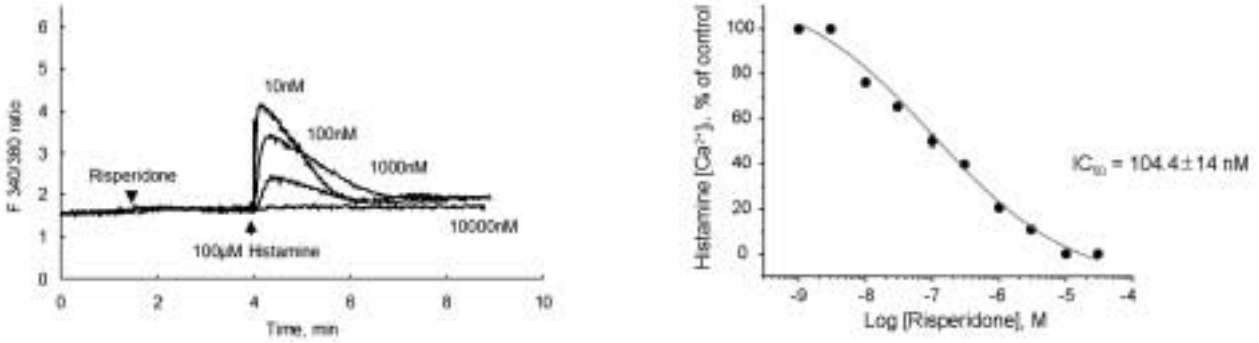
HSG에 각기 다른 농도의 리스페리돈을 전처리하고 100 μM의 히스타민을 처리하였을 때 리스페리돈의 농도에 따라 히스타민에 의한 칼슘 변화를 억제하는 정도가 증가하였으며 대수 농도-반응 곡선은 sigmoidal curve로 나타났다(Fig. 4). IC<sub>50</sub>은 104.4±14 nM이었다.



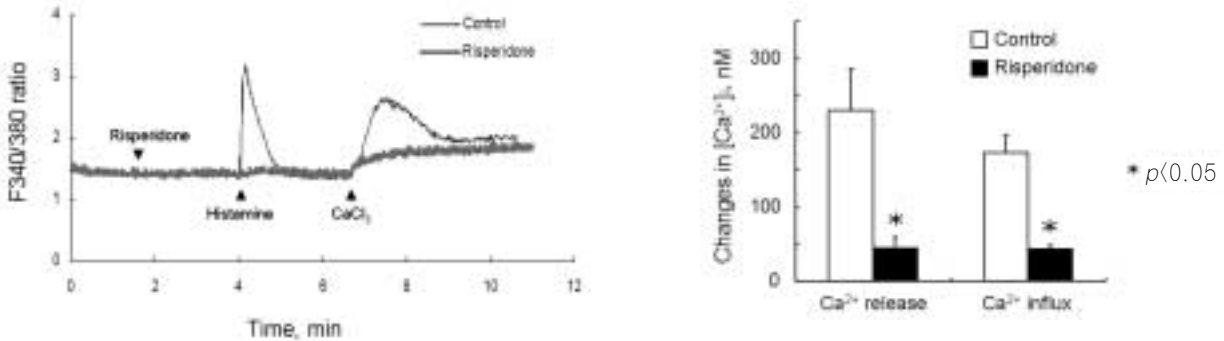
**Fig. 2.** The effect of carbachol, ATP, and histamine on [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub> in HSG cells. [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub> increased by carbachol, ATP and histamine. Pretreatment with risperidone inhibits histamine-induced [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub> in HSG cells while it does not inhibits carbachol and ATP-induced [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>.



**Fig. 3.** Concentration-dependent elevation of [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub> by histamine. Various concentrations of histamine were applied to HSG cells and changes in the fluorescence ratio at the peak height were monitored. Data are expressed as mean± SEM.



**Fig. 4.** The effect of risperidone on histamine-induced [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub> in HSG cells. Cells were preincubated with the indicated concentrations of risperidone and then treated with 100 μM histamine. Concentration-dependent inhibition of histamine-induced [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub> is shown. Data are expressed as mean ± SEM.



**Fig. 5.** The effect of risperidone on histamine-induced [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub> under Ca<sup>2+</sup>-free conditions using Ca<sup>2+</sup>-free Locke's solution and 300 μM EGTA. Risperidone inhibits both histamine-induced Ca<sup>2+</sup> release from endoplasmic reticulum and influx of extracellular Ca<sup>2+</sup> in HSG cells. Statistical significance was found at the indicated level between the control and each response. \**p* < 0.05.

4. 히스타민과 리스페리돈이 세포내 칼슘의 유리와 유입에 미치는 영향

Ca<sup>2+</sup>-free 용액에서 HSG에 100 μM의 히스타민을 처리하였을 때 세포내 칼슘농도가 증가하였으며 2~3분 후 4 mM CaCl<sub>2</sub>를 처리하였을 때 세포내 칼슘농도가 증가하였다. 리스페리돈 3 μM을 전처리한 경우에는 통계학적으로 유의하게 (*p* < 0.05) 이러한 칼슘농도의 증가가 억제되었다(Fig. 5).

IV. 총괄 및 고찰

리스페리돈은 serotonin 5-HT 1A 및 2A 그리고 dopamine D<sub>2</sub> 수용체에 친화성을 가진다. 5-HT 1A 수용체는 세포내에서 G<sub>i</sub>/G<sub>o</sub> protein에 신호를 주어 adenylyl cyclase의 활성감소를 가져와 세포내 cAMP 형성을 억제한다. 5-HT 2A 수용체는

G<sub>q</sub>/G<sub>11</sub> protein을 경유, phospholipase C 효소의 활성을 증가시키고 IP<sub>3</sub>의 형성을 유도하여 결국 세포내 Ca<sup>2+</sup> 농도를 증가시킨다. 한편 dopamine D<sub>2</sub> 수용체는 adenylyl cyclase의 활성화를 유도하여 세포내 cAMP 농도를 증가시킨다<sup>29,36-38</sup>). 만약 타액선에 이러한 수용체들이 존재한다면 리스페리돈은 해당 수용체의 신호를 조절하여 타액분비에 직접적으로 영향을 미칠 가능성이 매우 크다. 하지만 아직 타액선 세포에 이들 수용체가 존재하여 기능을 보인다는 보고는 전혀 없다. 따라서 리스페리돈에 의한 구강건조 현상은 타액선에 존재하는 다른 요인에 영향을 줄 가능성이 매우 높다고 할 수 있다. 따라서 본 연구에서는 신경지배를 배제한 세포수준에서 리스페리돈의 작용타겟이 어디이며 어떠한 영향을 미치는지를 세포내 칼슘농도의 변화를 통해 알아보고자 하였다.

타액선 세포에서 세포내 칼슘농도를 증가시킨다고 잘 알려져 있는 신경전달물질로는 아세틸콜린이 있다. 최근 세포외부의

ATP와 히스타민이 아세틸콜린만큼이나 강력한 칼슘농도 증가 인자로 주목받고 있다. 본 연구 결과 리스페리돈은 무스카린-콜린 동작성 수용기의 효능제인 카바콜과 푸린 동작성 수용기의 효능제인 ATP의 작용에는 전혀 영향을 주지 않았으며 히스타민의 세포내 칼슘농도 증가효과를 억제하는 것으로 나타났다. 이와 같은 결과는 리스페리돈에 의한 효과가 오로지 히스타민 수용체에만 선택적인 영향을 미친다는 것을 말해준다. 일반적으로 리스페리돈과 같이 뇌혈관장벽을 통과하는 지질용해도가 높은 약물은 세포에 광범위하게 영향을 미칠 가능성이 있으나 리스페리돈의 경우 타액선 세포에서 히스타민의 작용만을 선택적으로 억제하는 것으로 나타났다. 사람 타액선 모델 세포주인 HSG에 히스타민의 농도에 따른 세포내 칼슘농도의 변화를 정량해 본 결과 농도의존적(concentration-dependent)인 양상을 보였으며 히스타민에 의한 칼슘변화에 미치는 리스페리돈의 저해효과 역시 농도의존적인 양상을 보였다. 이는 수용체와의 결합에 의한 약물의 작용 기전을 나타내는 S자형의 대수 농도-반응 곡선을 통해 알 수 있었다. 만약 이러한 억제작용이 매우 고농도에서만 이루어진다면 임상에서의 투여용량을 넘어서는 범위에서 억제작용이 나타난다는 점을 암시하여 임상적인 중요성을 높게 평가할 수 없게 된다. 따라서 다음으로 리스페리돈의 용량과 억제반응의 상관관계를 살펴보았다. 리스페리돈의 IC<sub>50</sub>은 104.4±14 nM로 리스페리돈의 적정혈중농도 이하에 해당되었다<sup>34,35</sup>. 이는 실제로 리스페리돈을 복용하는 환자의 리스페리돈 혈중농도에서 타액선 세포내 칼슘농도를 감소시킬 수 있음을 시사한다. 또한 세포내 칼슘농도의 변화가 소포체에서의 칼슘의 유리(release)에 의한 것인지 세포밖 칼슘의 유입(influx)에 의한 것인지를 알아보기 위해 세포밖 칼슘을 완전히 제거한 Ca<sup>2+</sup>-free 용액에서 실험을 시행하였다. Ca<sup>2+</sup>-free 용액에서 시약을 처리한 후 칼슘농도의 변화를 관찰하고 2~3분 후 4 mM CaCl<sub>2</sub>를 처리한 후 칼슘농도의 변화를 관찰하였다. 전자에서 세포내 칼슘농도의 증가는 소포체에서의 칼슘의 유리를 의미하며 후자는 외부의 칼슘이 세포내로 유입되었음을 의미한다.

연구 결과 히스타민을 매개로 소포체에서의 칼슘의 유리와 세포밖 칼슘의 유입에 의해 세포내 칼슘 농도의 증가를 관찰하였으며 리스페리돈은 이러한 히스타민의 작용을 모두 억제하는 것으로 나타났다. 많은 항히스타민제들이 부작용으로 구강 건조증을 일으킨다고 알려져 있다<sup>23-25,39</sup>. 히스타민은 히스타민 수용체에 작용하여 그 효과를 나타내는데 아직까지 사람의 타액선에서는 히스타민 수용체가 존재한다는 사실이 명확히 밝혀지지 않은 상태이므로 앞으로 이에 대한 연구가 필요하리라 생각된다. 실제로 리스페리돈의 binding assay를 살펴보면 리스페리돈은 serotonin 5-HT<sub>2</sub>, dopamine D<sub>2</sub> 수용체 외에 히스타민 H<sub>1</sub> 수용체에도 친화성을 갖는 것으로 보고되고 있다<sup>40</sup>. 이와 같은 사실은 본 연구에서 이루어진 리스페리돈에 의한 히스타민의 칼슘증가 억제 효과 발견과도 일맥상통하고 있으며 본 연구

의 신뢰도를 높인다고 하겠다.

전형적 항정신병 약물은 항콜린성 작용에 의해 구강건조를 유발한다고 알려져 있으나 비전형적 항정신병 약물(atypical antipsychotics)은 기존의 약물에 비해 그 빈도는 낮으나 사람에 따라 구강건조와 타액분비 증가가 부작용으로 나타나는 것으로 알려져 있다. 콜린 동작성 수용체와 아드레날린 동작성 수용체에 친화성이 없으며 타액선에서 전혀 볼 수 없는 기전에 작용한다고 알려져 있는 비전형적 항정신병 약물들이 어떻게 타액선에 영향을 줄 수 있는가에 대해서는 명확히 알려진 바가 없다. 타액분비 증가가 나타나는 기전에 대해서는 실제 타액분비량이 증가했다기 보다는 추체외로증상의 하나인 연하근란에 의해 타액을 삼키는 빈도와 효능이 떨어지기 때문에 침을 흘리는 것이라는 의견이 지배적이다<sup>41-44</sup>. 실제로 타액분비과다를 호소하는 파킨슨병 환자에서 타액분비량을 조사해본 결과 대조군과 차이가 없거나 오히려 타액분비량이 감소했다고 보고되고 있다<sup>41,45-48</sup>. 리스페리돈의 이상반응으로 알려진 타액분비과다 역시 추체외로증상의 하나로 여겨지고 있으며 항파킨슨제를 투여하면 이러한 증상이 소실된다고 보고되고 있다. 리스페리돈의 구강건조 유발 기전에 대해서는 현재까지 알려진 바가 없으며 본 연구에서는 신경지배를 배제한 세포수준에서 리스페리돈의 히스타민 저해 효과에 의해 칼슘신호가 억제됨을 관찰함으로써 리스페리돈이 구강건조증 유발 작용을 보일 수 있다는 증거를 제공하였다.

그러나 이러한 구강건조 및 타액분비과다는 실제 환자의 타액분비량을 측정하는 것이 아닌 환자의 주관적 증상을 토대로 조사한 것이 대부분이며 이는 리스페리돈의 경우도 그러하다. 따라서 환자의 주관적 증상과 더불어 실제 타액분비량의 변화를 측정하는 임상연구가 필요하리라 사료된다. 또한 기존의 전형적 항정신병 약물에 비해 실제로 현재 처방빈도가 높은 비전형적 항정신병 약물로 인한 타액분비감소와 이로 인한 치과적 문제에 대한 인식이 부족한 실정이므로 현재 많이 쓰이고 있는 약물을 중심으로 한 연구가 활성화되어야 한다고 생각된다. 특히 새롭게 개발되는 약물들이 전혀 예측치 못하였던 구강건조증 유발효과를 가질 가능성이 있기 때문에 이 가능성을 미리 알아볼 수 있는 검색방법이 요구되며 이를 통해 외인성 약물에 의한 구강건조증을 예방, 치료하는 방안을 제시하는 것이 필요하리라 사료된다.

항정신병 약물은 오랜 기간을 두고 복용하고 적정혈중농도가 계속 유지되기 때문에 이러한 약물이 타액분비감소를 일으킬 경우 일상생활에 심한 불편을 초래할 뿐 아니라 다발성우식증과 같은 심각한 치과적 질환을 야기할 수 있다<sup>49</sup>. 따라서 만성질환 환자, 정신질환자, 장애인 등 구강건조증 유발 약물을 장기간 투여하는 환자에서는 치료질환의 발생빈도와 심도가 높으므로 구강위생관리를 강화하여 치과적 질환을 예방하기 위한 노력이 절실히 요구된다.

V. 결 론

본 연구는 리스페리돈이 타액분비 기전의 중요한 요소인 세포내 칼슘 증가에 미치는 영향을 세포수준에서 밝히고자 사람 타액선 모델 세포주인 HSG에 카바콜, ATP, 히스타민을 처리하여 세포내 칼슘농도의 변화를 측정하고 리스페리돈의 전처리가 이에 미치는 효과를 비교하였으며 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. HSG에서 카바콜, ATP, 히스타민 처리로 인해 세포내 칼슘농도가 증가하였으며 리스페리돈을 전처리한 경우 카바콜과 ATP의 작용에는 영향을 주지 않았으나 히스타민의 작용을 억제하였다.
2. 세포내 칼슘 변화에 미치는 히스타민의 효과는 농도 의존적인 양상을 보였으며 EC<sub>50</sub>은 3.3±0.5 μM이었다.
3. 히스타민에 의한 HSG에서의 칼슘 변화에 미치는 리스페리돈의 저해 효과는 농도의존적인 양상을 보였으며 IC<sub>50</sub>은 104.4±14 nM이었다.
4. 리스페리돈은 히스타민에 의한 소포체에서의 칼슘의 유리 와 세포 밖 칼슘의 유입을 모두 유의성 있게 억제하였다 (p<0.05).

참고문헌

1. Aparasu RR, Bhatara V : Patterns and determinants of antipsychotic prescribing in children and adolescents, 2003-2004. *Curr Med Res Opin*, 23:49-56, 2007.
2. First drug to treat irritability associated with autism. *FDA Consum*, 41:4, 2007.
3. 조수철 : 소아정신약물학. 서울대학교출판부, 101, 147, 276, 2005.
4. De Oliveira IR, Juruena MF : Treatment of psychosis: 30 years of progress. *J Clin Pharm Ther*, 31:523-534, 2006.
5. Ipser J, Stein DJ : Systematic review of pharmacotherapy of disruptive behavior disorders in children and adolescents. *Psychopharmacology*, 191:127-140, 2007.
6. Luby J, Mrakotsky C, Stalets MM, et al. : Risperidone in preschool children with autistic spectrum disorders: an investigation of safety and efficacy. *J Child Adolesc Psychopharmacol*, 16:575-587, 2006.
7. West L, Waldrop J : Risperidone use in the treatment of behavioral symptoms in children with autism. *Pediatr Nurs*, 32:545-549, 2006.

8. Hori T, Makabe K, Nemoto K, et al. : Hypersalivation induced by olanzapine with fluvoxamine. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 30:758-760, 2006.
9. Kontaxakis VP, Ferentinos PP, Havaki-Kontaxaki BJ, et al. : Risperidone augmentation of clozapine: a critical review. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci*, 256:350-355, 2006.
10. Duran JC, Greenspan A, Diago JI, et al. : Evaluation of risperidone in the treatment of behavioral and psychological symptoms and sleep disturbances associated with dementia. *Int Psychogeriatr*, 17:591-604, 2005.
11. Boyce HW, Bakheet MR : Sialorrhea: a review of a vexing, often unrecognized sign of oropharyngeal and esophageal disease. *J Clin Gastroenterol*, 39:89-97, 2005.
12. Cheng-Shannon J, McGough JJ, Pataki C, et al. : Second-generation antipsychotic medications in children and adolescents. *J Child Adolesc Psychopharmacol*, 14:372-394, 2004.
13. Fernandez HH, Trieschmann ME, Friedman JH : Treatment of psychosis in Parkinson's disease: safety considerations. *Drug Saf*, 26:643-659, 2003.
14. Freudenreich O, Goff DC : Antipsychotic combination therapy in schizophrenia. A review of efficacy and risks of current combinations. *Acta Psychiatr Scand*, 106:323-330, 2002.
15. Fleischhacker WW, Lemmens P, van Baelen B : A qualitative assessment of the neurological safety of antipsychotic drugs: an analysis of a risperidone database. *Pharmacopsychiatry*, 34:104-110, 2001.
16. Buitelaar JK, van der Gaag RJ, Cohen-Kettenis P, et al. : A randomized controlled trial of risperidone in the treatment of aggression in hospitalized adolescents with subaverage cognitive abilities. *J Clin Psychiatry*, 62:239-248, 2001.
17. Roerig JL, Mitchell JE, de Zwaan M, et al. : A comparison of the effects of olanzapine and risperidone versus placebo on eating behaviors. *J Clin Psychopharmacol*, 25:413-418, 2005.
18. Srisurapanont M, Maneeton B, Maneeton N : Quetiapine for schizophrenia. *Cochrane Database Syst Rev*, 2:CD000967, 2004.
19. Potkin SG, Thyrum PT, Alva G, et al. : The safety and pharmacokinetics of quetiapine when coadminis-

- tered with haloperidol, risperidone, or thioridazine. *J Clin Psychopharmacol*, 22:121-130, 2002.
20. Mullen J, Jibson MD, Sweitzer D : A comparison of the relative safety, efficacy, and tolerability of quetiapine and risperidone in outpatients with schizophrenia and other psychotic disorders: the quetiapine experience with safety and tolerability (QUEST) study. *Clin Ther*, 23:1839-1854, 2001.
  21. Bhana N, Foster RH, Olney R, et al. : Olanzapine: an updated review of its use in the management of schizophrenia. *Drugs*, 61:111-161, 2001.
  22. Koran LM, Ringold AL, Elliott MA : Olanzapine augmentation for treatment-resistant obsessive-compulsive disorder. *J Clin Psychiatry*, 61:514-517, 2000.
  23. Guggenheimer J, Moore PA : Xerostomia: etiology, recognition and treatment. *J Am Dent Assoc*, 134:61-69, 2003.
  24. Scully C : Drug effects on salivary glands: dry mouth. *Oral dis*, 9:165-176, 2003.
  25. Bergdahl M, Berhdahl J : Low unstimulated salivary flow an subjective oral dryness: association with medication, anxiety, depression, and stress. *J Dent Res*, 79:1652-1658, 2000.
  26. Gupta A, Epstein JB, Sroussi H : Hyposalivation in elderly patients. *J Can Dent Assoc*, 72:841-846, 2006.
  27. Cassolato SF, Turnbull RS : Xerostomia: clinical aspects and treatment. *Gerodontology*, 20:64-77, 2003.
  28. Ambudkar IS : Regulation of calcium in salivary gland secretion. *Crit Rev Oral Biol Med*, 11:4-25, 2000.
  29. 이종훈, 김중수 : 구강생리학 4판. 군자출판사, 177-210, 1994.
  30. Soltoff SP, McMillian MK, Cragoe EJ Jr, et al. : Effects of extracellular ATP on ion transport systems and  $[Ca^{2+}]_i$  in rat parotid acinar cells. Comparison with the muscarinic agonist carbachol. *J Gen Physiol*, 95:319-346, 1990.
  31. 이주석, 서정택, 이정일 외 : 흰쥐 악하선 세포에서 gap junction 봉쇄제인 octanol이 타액분비 및 세포내  $Ca^{2+}$  농도 조절에 미치는 영향. *대한소아치과학회지*, 26:399-415, 1999.
  32. Gryniewicz G, Poenie M, Tsien RY : A new generation of  $Ca^{2+}$  indicators with greatly improved fluorescence properties. *J Biol Chem*, 260:3440-3450, 1985.
  33. Uto A, Arai H, Ogawa Y : Reassessment of Fura-2 and the ratio method for determination of intracellular  $Ca^{2+}$  concentrations. *Cell Calcium*, 12:29-37, 1991.
  34. Flarakos J, Luo W, Aman M, et al. : Quantification of risperidone and 9-hydroxyrisperidone in plasma and saliva from adult and pediatric patients by liquid chromatography-mass spectrometry. *J Chromatogr A*, 1026:175-183, 2004.
  35. Medori R, Mannaert E, Grnder G : Plasma antipsychotic concentration and receptor occupancy, with special focus on risperidone long-acting injectable. *Eur Neuropsychopharmacol*, 16:233-240, 2006.
  36. Yagiela JA, Neidle EA, Dowd FJ : Pharmacology and therapeutics for dentistry 5th edition. Mosby, 2004.
  37. 김경환 편 : 이우주의 약리학강의 5판. 의학문화사, 7-26, 2003.
  38. Bertram Katzung : Basic and clinical pharmacology 9th edition. McGraw-Hill, 2004.
  39. Elad S, Heisler S, Shalit M : Saliva secretion in patients with allergic rhinitis. *Int Arch Allergy Immunol*, 141:276-280, 2006.
  40. Richelson E, Souder T : Binding of antipsychotic drugs to human brain receptors focus on newer generation compounds. *Life Sci*, 68:29-39, 2000.
  41. Tumilasci OR, Cersosimo MG, Belforte JE, et al. : Quantitative study of salivary secretion in Parkinson's disease. *Mov Disord*, 21:660-667, 2006.
  42. Edwards LL, Quigley EM, Harned RK, et al. : Characterization of swallowing and defecation in Parkinson's disease. *Am F Gastroenterol*, 1:15-25, 1994.
  43. Leopold NA, Kagel MC : Laryngeal deglutition movement in Parkinson's disease. *Neurology*, 48:373-376, 1997.
  44. Pinnington LL, Muhiddin KA, Ellis RE, et al. : Non-invasive assessment of swallowing and respiration in Parkinson's disease. *J Neurol*, 247:773-777, 2000.
  45. Bagheri H, Damase-Mechel C, Lapeyre-Mestre M, et al. : A study of salivary secretion in Parkinson's disease. *Clin Neuropharmacol*, 22:213-215, 1999.



46. Beteson MC, Gibberd FB, Wilson RSE : Salivary symptoms in Parkinson's disease. Arch Neurol, 29:274-275, 1973.
47. Persson M, Osterberg T, Granerus AK, et al. : Influence of Parkinson's disease on oral health. Acta Odontol Scand, 50:37-42, 1992.
48. Proulx M, De Courval FP, Wiseman MA, et al. : Salivary production in Parkinson's disease. Mov Disord, 20:204-207, 2005.
49. 김재곤, 김영신, 백병주 외 : 타액 우식 관련 검사와 치아 우식 경험과의 관계에 관한 연구. 대한소아치과학회지, 32:67-74, 2005.

## Abstract

### THE EFFECT OF RISPERIDONE ON SALIVARY GLAND CELLS

Yeon-Joo Lee, Yeong-Jae Kim, Jung-Wook Kim, Ki-Taek Jang,  
Chong-Chul Kim, Se-Hyun Hahn, Sang-Hoon Lee

*Department of Pediatric Dentistry, College of Dentistry and Dental Research Institute, Seoul National University*

Risperidone is a widely prescribed atypical antipsychotic agent. Approved by the FDA as the first drug to treat irritability associated with autism in children, it is also used to treat tic disorder and Tourette's syndrome. Its adverse reactions related to dentistry include dry mouth, the mechanism of which is yet to be identified. The aim of this study is to identify, at the cellular level, how and to what extent risperidone affects intracellular free calcium concentration ( $[Ca^{2+}]_i$ ), an primary intracellular factor in the regulation of fluid secretion in salivary gland cells.

The human salivary gland cell line (HSG) was grown in MEM supplemented with 10% BCS. In order to measure  $[Ca^{2+}]_i$ , Fura-2/AM was loaded in the HSG, and fluorescence at 340 nm/380 nm excitation was measured in the 500 nm emission ratio. After every experiment, a calibration experiment was conducted in order to readjust the ratio to the actual  $[Ca^{2+}]_i$ . Changes in  $[Ca^{2+}]_i$  were measured in the presence of carbachol, ATP and histamine. The researcher then explored how the pretreatment of risperidone affected such changes. Findings of this study include:

1. In HSG,  $[Ca^{2+}]_i$  increased due to the addition of carbachol, ATP and histamine. The presence of risperidone inhibited the action of histamine on this process, while making little effect on that of carbachol and ATP.
2. A quantification of  $[Ca^{2+}]_i$  in relation to histamine of different concentrations indicates that the effect of histamine was concentration dependent with an  $EC_{50}$  of  $3.3 \pm 0.5 \mu M$ .
3. The inhibitory effect of risperidone on histamine-induced  $[Ca^{2+}]_i$  was concentration-dependent with an  $IC_{50}$  of  $104.4 \pm 14 nM$ .
4. Risperidone inhibits histamine-induced  $Ca^{2+}$  release from endoplasmic reticulum and influx of extracellular  $Ca^{2+}$  in HSG cells ( $p < 0.05$ ).

**Key words** : Risperidone, Human salivary gland cells, Intracellular calcium concentration, Histamine, Carbachol, ATP