

기니픽尿管에 있어서 OFF Response 발생과 그 특징

釜山大學校 醫科大學 藥理學敎室

洪起煥* · 林炳用* · 피타 비안카니** · 로버트 와이쓰**

= Abstract =

“OFF” Response and Its Characteristics of Guinea Pig Ureter

K.W. Hong, B.Y. Rhim, Peter Biancani and Robert M. Weiss*

*Department of Pharmacology, College of Medicine, Busan National University, Busan, Korea**

*Department of Surgery, School of Medicine, Yale University, U.S.A.***

The in vitro guinea pig ureter responded to 5 sec trains of electrical stimuli with two contractions; the first an “on response”(ON) occurred with 0.1~0.3 sec after the onset of the stimulus train, the second an “off response”(OFF) occurred 0.2~1.0 sec after the termination of the stimulus train. Relaxation occurred between the two responses during a time when the stimulus was still being delivered. Longer duration and/or higher frequencies of stimuli within the train were required to elicit the OFF than the ON. Decreasing temperature from 37°C to 22°C decreased ON amplitude and increased OFF amplitude.

Ca⁺⁺-free solution, 2 mM EDTA, 1 mM Mn⁺⁺ or 1 μM verapamil rapidly abolished ON. OFF persisted when ON had disappeared by repeated stimulation at 0.12 train per sec. Conversely, caffeine, 50 μM and theophylline, 10 μM abolished OFF with only slight reduction of ON, and sodium nitroprusside decreased preferentially ON amplitude rather than OFF. Relaxation between ON and OFF was incomplete in low Na⁺ solution. ON and OFF were not affected by the neural blockers tetrodotoxin, atropine or phentolamine, also pyrilamine and methysergide, and relaxation between ON and OFF was Na⁺ dependent. Furthermore, ON depends on free Ca⁺⁺ and OFF is more dependent on bound or stored Ca⁺⁺.

緒 論

尿管運動의調節에 있어서 그性質이나 役割에 대하여는 많은 업적이 報告되고 있음에도 불구하고 運動性 그 自體가 神經性에 기인하는지 또는 筋性調節에 기인하는지에 대하여는 明白하지 아니하다.

Bakuntz 및 Vantsian(1976)은尿管은 平滑筋 장기로서 機能에 있어서 特徵的인 自動 pacemaker 機能을 가지고 있는 特殊한 臟器라고 강조하였으며, Weiss(1976)도 역시尿管 련동운동의 發生과 機構라는 評論

에서尿管은 uretero-pelvic junction 以外の 다른 部位에서도 latent pacemaker 機能을 나타내는 性質을 가지고 있다고 지적하였다. 한편 Christensen 및 Lund(1969)는 opossum 食道에 balloon을 장치하여 팽창 시킴으로서 食道를 확장하든지 또는 電氣刺戟을 가하면 ON response를 일으키고 balloon을 deflation 시키거나 電氣刺戟을 中止하면 食道에 단시간의 收縮現象을 나타내고 이러한 OFF response(著者註: 後反應)는 tetrodotoxin에 의하여 拮抗되고 hexamethonium, atropine, propranolol, tolazoline, methysergide 등으로 拮抗되지 않는 點으로 보아 nonadrenergic, non-

cholinergic 抑制性 神經纖維의 媒介에 의한 收縮이라고 結論하였다.

기니픽의 結腸紐 等에서도 電氣刺戟에 의한 after-contraction을 報告하였고(Bennett, 1966), 小腸에서도 電氣刺戟에 의한 內因性 抑制纖維의 興奮後에 곧 rebound excitation이 나타남이 報告되고 있다(Campbell, 1966; Day 및 Warren, 1968).

이 研究에서는 기니픽尿管에 있어서 electrical field stimulation(EFS)으로 收縮反應을 일으켰을 때 刺戟과 同時에 일차 spike性 收縮이 일어나고 刺戟中에는 spike가 거의 消失되고 긴장만 유지되다가 電氣刺戟을 中止하면 一定한 latent period를 거쳐 spike性 後反應이 야기됨을 관찰하고 이에 대한 生物學의 特性을 몇가지 검토하고尿管의 電氣生理學의 性質과 관련을 저어 考案하였다.

實驗方法

生後 3個月된 숫컷 白色 기니픽을 十二指腸 및 出血死시킨 후 開腹하여尿管을 노출시켰다.尿管의 上尖端과 下部를 피하고 中間部의 in vivo의 長이를 3~3.5 cm가 되게 적출하였다. 그리고 그후尿管을 Tyrode液이 담긴 wax block에서 양끝을 핀으로 固定하여 in vivo 길이로 펼치고 주위의 結체조직을 제거한 후尿管 切片을 소형 金環에 끼워서 二重(U字型)으로 하여 한쪽 끝은 muscle chamber 바닥에 固定되어 있는 白金 고리에 固定하고 다른 한 끝은 Statham UC-2 force transducer에 연결하여 현수하였다.

組織 切片을 20 ml 용량의 muscle chamber內에 현수하고 酸素가 포화된 Tyrode液을 4 ml/min 속도로 계속 superfusion시키면서 實驗을 行하였다.

이때 使用한 Tyrode液은 NaCl, 137; NaHCO₃, 12; NaH₂PO₄, 1.8; KCl, 2.7; CaCl₂, 2.7; glucose, 5.5 및 MgCl₂, 0.5 mM의 組成을 가졌으며 이 溶液을 5% CO₂가 포함된 95% O₂ 공급하에 pH 7.3~7.4로서 37°C가 되도록 유지하였다.

組織을 현수한 後 500 mg의 resting tension下에서 60分間 방치하여 equilibrate시킨 後에 電氣刺戟을 加하였다. 電氣刺戟 方法은 0.5 cm 간격의 白金線으로된 electrode를 使用하여 Grass Model S48 stimulator로서 square wave를 加하였다. 그리고 latency period는 電氣刺戟 도중에 paper speed를 增加시킴으로써 얻었다.

K⁺-free 溶液은 Tyrode液에서 다른 電解質과의 代置없이 K⁺만을 제거하여 使用하였으며, 低濃度の Na⁺

Tyrode液은 Na⁺ 대신에 同量의 sucrose로 代置하였다.

Mn⁺⁺을 使用한 實驗에서는 NaHCO₃와 NaH₂PO₄代身に 6 mM Tris-HCl을 첨가하여 使用하였다.

統計處理는 paired 및 unpaired t-test로 하였고 모든 測定値는 mean ± standard error of mean(S.E.M.)으로 表示하였다.

實驗結果

1) 電氣刺戟 效果

尿管 收縮의 OFF response의 發生에 있어서 必要로 하는 EFS의 各種 parameters는 Table 1에서 보는 바와 같다. 이 實驗에서는尿管을 腎臟 近位部와 遠位部로 二分하여 현수하고, 電源 50 V에서 5초간 square wave로 자극할 때 spike性 收縮이 일어나고 弛緩이 지속되다가 刺戟을 中止함으로써 다시 二次 收縮이 일어났다. 前者를 ON response라 하고 後者를 OFF response라 하였다. ON response는 0.5~5.0 msec pulse duration에서 5~80 pulse per second(pps)에 의하여 恒常 일어났으나 OFF response는 2 msec pulse duration에서는 40~80 pps에 의하여 야기되었고 5 msec에 의하여서는 5, 10, 40 pps에 의하여서도 일어났다.

尿管 近位部나 遠位부에 있어서 OFF response를 일으키는데 요구되는 電氣刺戟의 parameters는 동일하였고 단지 遠位部の 收縮高가 근위부에 비하여 훨씬 컸었다. 따라서 本 實驗에서는 주로 2 msec pulse duration, 40 pps, 50 volt를 5초간 電氣刺戟하였고 그 代表的인 形態는 Fig. 1에서 보는 바와 같다.

2) 溫度 및 K⁺-free Solution의 效果

이 OFF response의 性狀을 검토코저 muscle chamber의 溫度를 변경시키거나 Tyrode液을 K⁺-free로 만들어서 그 效果를 觀察하였다. 이 實驗에서는尿管組織을 37°C의 Tyrode液에서 60分間 平衡을 維持시키고 난 後 收縮反應을 觀察한 다음 muscle chamber의 溫度를 내려서 22°C로 하고 15分 經過후에 電氣刺戟을 加하여 反應을 觀察하고 徐徐히 溫度를 上昇시켜서 32°C 및 42°C로 增加시켰다. 한편 Tyrode液 대신에 K⁺-free Tyrode液을 使用하여 同一한 實驗을 行하였다(Table 2).

每 實驗마다 記錄 速度를 빨리하여 電氣刺戟과 收縮發生時間 즉 latency를 觀察하여 ON 및 OFF respo-

Table 1. Effects of varying duration and frequencies of electrical field stimulation on the development of ON and OFF responses

Portions of Ureter		Proximal, N;6		Distal, N;6	
Parameters of Stimulation		ON	OFF	ON	OFF Response
Duration (msec)	Frequency (pulse per second)	Mean±S.E.M. (g)			
0.5	10	0.36±0.12	— ^a	0.52±0.26	—
	40	0.46±0.11	—	1.12±0.19	—
	80	0.53±0.10	—	1.27±0.14	—
1.0	5	0.24±0.15	—	0.63±0.33	—
	10	0.35±0.11	—	0.91±0.28	—
	40	0.50±0.10	—	1.29±0.14	—
	80	0.48±0.11	—	1.27±0.14	—
2.0	5	0.29±0.09	—	1.30±0.14	—
	10	0.36±0.09	—	1.31±0.14	—
	40	0.40±0.10	0.23±0.06	1.29±0.13	0.83±0.27
	80	0.35±0.09	0.31±0.08	1.10±0.11	1.21±0.16
5.0	5	0.31±0.10	0.17±0.08	1.22±0.11	0.23±0.14
	10	0.24±0.07	0.25±0.10	1.05±0.10	0.47±0.27
	40	0.24±0.06	0.18±0.08	0.82±0.11	0.87±0.20

Note; a, OFF response was not shown in these parameters.

b, Others were 50 V from stimulator, train duration 5 sec.

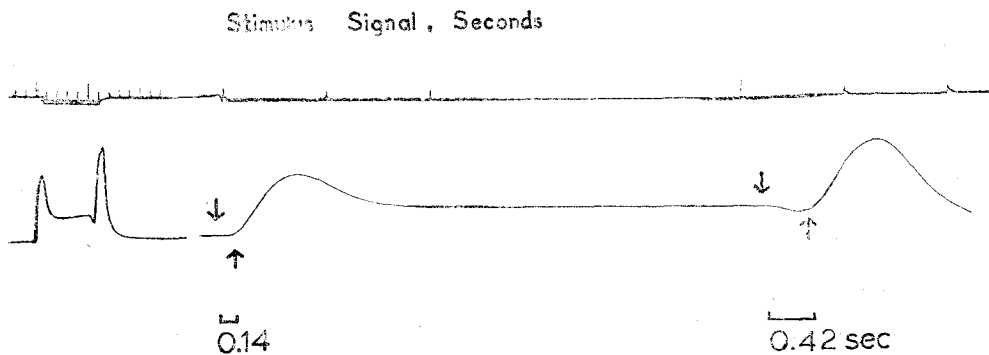


Fig. 1. The typical tracings of ON and OFF responses in the guinea pig ureter. Left panel shows slow paper-speed and right panel is showing fast paper-speed which allows to determine the latency of both responses in seconds.

nse의 latency를求하였다.

2.7mM K⁺ 含有 Tyrode 液에서 37°C 때 ON 및 OFF response의 收縮高는 1.06±0.20 및 0.78±0.13g 이었다. 溫度가 37°C에서 22°C로 下降될 때 ON res-

ponse의 收縮高는 輕微하게 감소하거나 變動을 나타 내지 아니하였으나 OFF response는 溫度가 下降됨에 따라 1.08±0.25g으로 增加되었고 42°C로 上昇됨에 따라서 ON response는 역시 큰變化는 없었으나 OFF

Table 2. Effect of temperature changes on the amplitude of ON and OFF responses, which were compared with those in the K⁺-free solution in the ureter.

Temperature in muscle chamber	K ⁺ , 2.7mM		K ⁺ -free Tyrode's sol.	
	ON	OFF	ON	OFF Response
	Mean±S.E.M., g			
37°C	1.06±0.20	0.78±0.13	0.96±0.18	1.11±0.16
22°C	0.91±0.18	1.08±0.25	0.83±0.15	1.09±0.19
32°C	0.96±0.22	0.83±0.18	1.14±0.26	1.20±0.20
42°C	1.12±0.22	0.23±0.08	1.14±0.22	0.70±0.26

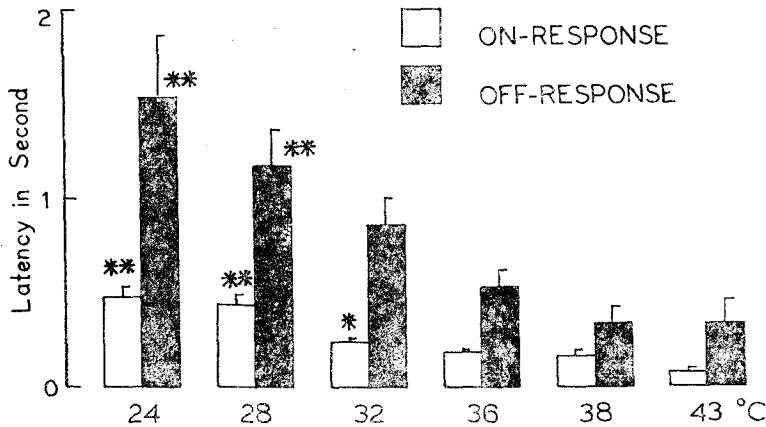


Fig. 2. Effect of the decrease in temperature on the latency prolongation.

Asterisks denote the significant differences compared with the latency of 36°C

Table 3. Effect of Ca⁺⁺-free Tyrode's solution on both ON and OFF responses

Conditions	N	Responses in amplitude (Mean±S.E.M., g)		Ratio OFF/ON
		ON	OFF	
Tyrode's solution with 2.7 mM Ca ⁺⁺	12	1.02±0.11	0.78±0.11	0.77±0.08
Ca ⁺⁺ -free Tyrode's solution	8	0.33±0.05	0.26±0.08	0.86±0.26

The strips were stimulated at 9~10 min in Ca⁺⁺-free Tyrode's solution.

response 는 0.23±0.08 g 으로 減少되었고 이 溫度에서 8 例中 3 例는 OFF response 가 消失되었다.

한편 K⁺-free Tyrode 液에서는 ON response 의 收縮高는 물론 變動이 적었고 OFF response 도 22°~37°C 사이에 별 變動이 없었으며 42°C에서 OFF response 는 0.70±0.26 g 을 나타내었고 8 例中 2 例에서 消失되었다. 反應의 latency 를 觀察한 결과 溫度의 下降으로 ON 및 OFF response 의 latency 가 둘다 점차 增加되었고 그 정도는 兩者 모두 비슷한 比率이었다 (Fig. 2).

3) 低 Ca⁺⁺ 濃度가 미치는 效果

이 實驗에서는 normal Tyrode 液에서 收縮反應을 觀察한 後 Ca⁺⁺-free Tyrode 液으로 바꾸고 9~10 分 이 경과한 후 電氣刺戟을 加하여 ON 및 OFF response 中 어느 것의 收縮高가 신속히 減弱되는가를 觀察 하였다 (Table 3). 이때 ON 및 OFF response 는 收縮高가 모두 減少되었으며 둘다 비슷한 정도로 低下되었다. 그리고 細胞膜 Ca⁺⁺ influx 를 低下시키는 條件에서 反復의으로 刺戟을 加하였을 때 ON 및 OFF res-

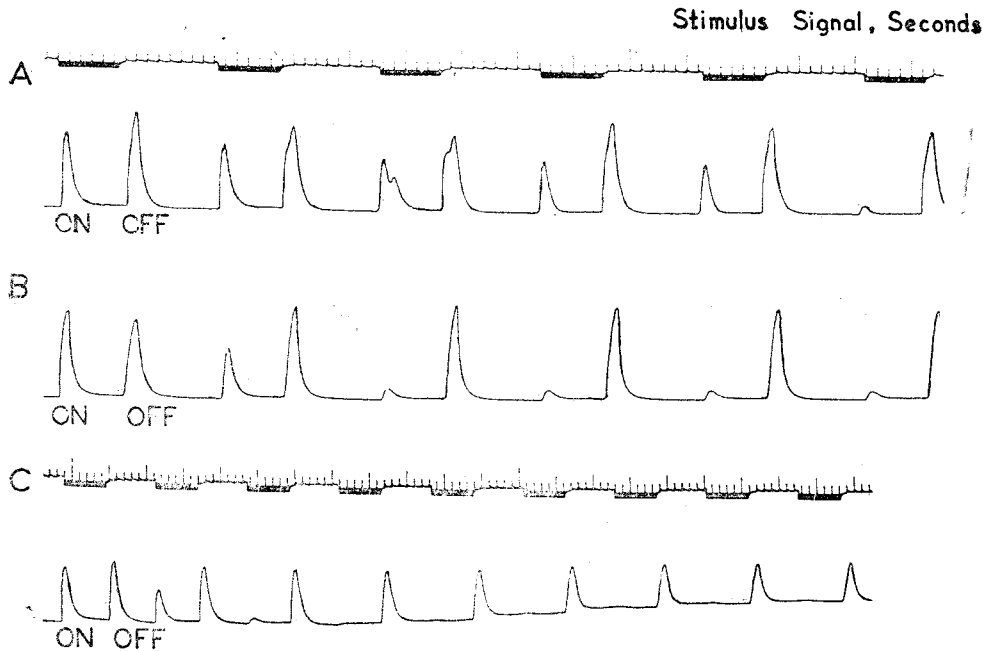


Fig. 3. Effects of low Ca^{++} -conditions on the fate of ON response.

A: After 5 min in Ca^{++} -free Tyrode's solution

B: At 8 min in 2 mM EDTA-Tyrode's solution

C: At 3 min in 1.0 mM $MnCl_2$ -treated solution

Table 4. Effects of theophylline and sodium nitroprusside on the both responses induced by electrical field stimulation

		Responses (Mean \pm S.E.M., g)	
		ON	OFF
Control		0.97 \pm 0.13	0.69 \pm 0.14
Theophylline	10 ⁻⁶ M	0.78 \pm 0.15	0.32 \pm 0.12
	10 ⁻⁵ M	0.76 \pm 0.13	0.07 \pm 0.07 ^a
Control		1.06 \pm 0.25	0.53 \pm 0.26
Sodium nitroprusside	10 ⁻⁴ M	1.09 \pm 0.31	0.50 \pm 0.26
	10 ⁻³ M	0.68 \pm 0.24 ^a	0.53 \pm 0.20

a: Significant difference as compared to control ($p < 0.05$).

ponse의 反應의 差異를 觀察하여 Fig. 3에서 보는 바와 같다. Ca^{++} -free Tyrode液으로 바꾸고 5분이 될 때 0.12 train per sec로 5초간 train pulse를 加하였을 때 처음에는 ON 및 OFF response가 正常的으로 일어났으나 5회중 反復하였을 때는 ON response는 減弱되다가 消失되고 OFF response는 數回 동안 거의 正常으로 維持되었다(Fig. 3-A). 이와 같은 現象은 2 mM EDTA를 加하거나 1.0 mM $MnCl_2$ 를 添加

때에도 마찬가지이었다(Fig. 3-B, C). 成績에는 없지만 1 μ M verapamil에 의하여서도 같은 現象을 나타내었다.

4) Cyclic Nucleotide 關聯物質들의 效果

Cyclic nucleotide 代謝에 있어서 phosphodiesterase 抑制劑인 theophylline과 cyclic GMP를 增加시키고 theophylline과 마찬가지로 平滑筋 弛緩劑인 sodium

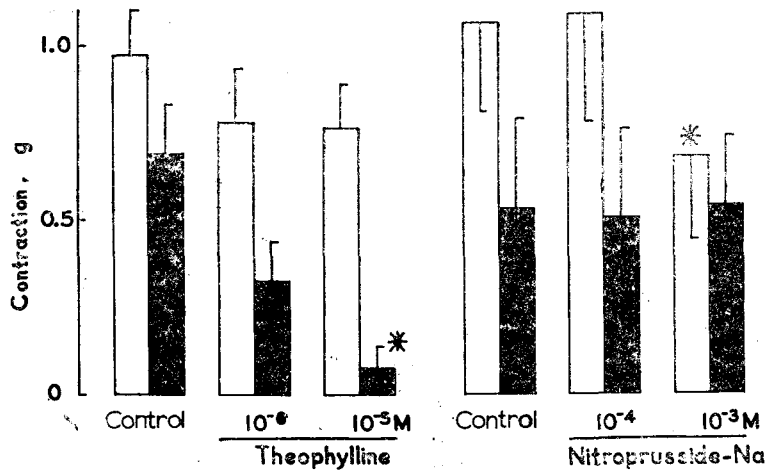


Fig. 4. Effects of theophylline and sodium nitroprusside on both responses. Asterisks denote the significant difference compared as the respective control ($p < 0.05$).

Table 5. Effects of several antagonists on the responses induced by electrical field stimulation

Drugs	Responses (Mean \pm S.E.M., g)			
	ON	p	OFF	p
Control	0.93 \pm 0.18		0.71 \pm 0.17	
2 $\times 10^{-6}$ M phentolamine	1.07 \pm 0.18	NS	0.63 \pm 0.22	NS
10 ⁻⁶ M atropine	0.88 \pm 0.18	NS	0.68 \pm 0.17	NS
10 ⁻⁵ M pyrilamine	0.94 \pm 0.18	NS	0.70 \pm 0.16	NS
10 ⁻⁵ M methysergide	0.72 \pm 0.16	NS	0.60 \pm 0.17	NS

The data represent the mean of 6 experiments.

nitroprusside의 효과를觀察하였다(Table 4 및 Fig. 4).

10⁻⁶ M 및 10⁻⁵ M theophylline을 각각添加時 ON response는 다소減少되었으나有意한差異가 아니었고 OFF response는前者는 6例中 3例 그리고後者는 6例中 5例에서消失됨을 보였다(Fig. 4).

한편成績에는 나타나 있지 않으나 같은 xanthine 유도체인 5 $\times 10^{-4}$ M caffeine을添加時에도 6例中 5例에서 OFF response는消失됨에比하여 ON response는收縮高의 약간의減少는 나타내었으나消失은 보이지 아니하였다.

그리고 10⁻⁴ M sodium nitroprusside를加하였을 때는兩反應이 별變化를 받지 아니하였으나 10⁻³ M濃度を加하였을 때는 OFF response는 별變化를 나타내지 않는데比해 ON response가有意하게減少하였다.

5) 各種拮抗藥物の效果

自律神經藥物封鎖劑로서 10⁻⁶ M atropine, 2 $\times 10^{-6}$ M phentolamine과抗 histamine劑로서 10⁻⁵ M pyrilamine,抗 serotonin藥物로서 10⁻⁵ M methysergide를處理하여兩反應의變動을觀察하였던바 atropine, phentolamine 및 pyrilamine 및 methysergide 모두 ON 및 OFF response에 대하여何等의影響을 나타내지 아니하였다(Table 5).

한편成績에는 나타나 있지 않으나 10⁻⁷ g/ml tetrodotoxin(TTX)을加하여도 두反應이 모두 영향을 받지 아니하였다.

6) 低 Sodium Tyrode 液의效果

Fig. 5에서 보는 바와같이 150.8 mM sodium이 포함된 Tyrode液에서觀察한後(Fig. 5-A) sodium量을 72 mM로減少시킨 Tyrode液을加하고 30分後에

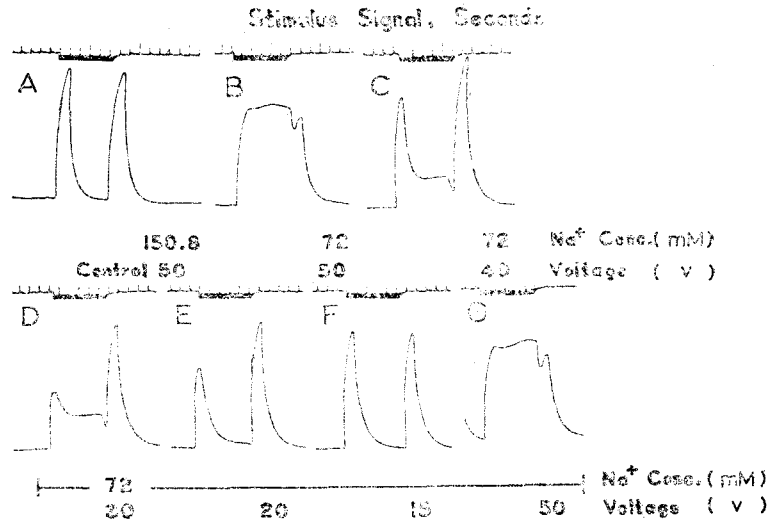


Fig. 5. Effect of low Na⁺ condition on both ON and OFF responses. The tracings are showing Na⁺- and voltage-dependent changes of tonus between ON and OFF responses.

50 volt 電源으로 刺戟을 加하였을 때 (Fig. 5-B) ON response 대신에 tonic contraction 이 야기되었고 刺戟의 中止와 同時에 OFF response 의 흔적은 그대로 殘存하였다. 이를 더욱 확실히 하기 위하여 電源壓을 낮추어서 40, 30, 20 및 15 volt 로 하였을 때에는 150.8 mM Na⁺에서 50 volt로 刺戟하였을 때와 마찬가지로 ON 및 OFF response 가 分離되었다 (Fig. 5-C, D, E and F). 그리고 低 sodium 에서 다시 50 volt로 자극을 加하여 tonic contraction 을 확인하였을 때에도 OFF response 의 흔적이 남아 있었다 (Fig. 5-G). 그리고 低 Na⁺에서 ON 및 OFF 사이의 긴장도는 증가되었고 voltage 감소에 의하여 저하되었으며 低 Na⁺ 함유 Tyrode 液에서도 OFF response 는 維持되었다. ON 과 OFF 사이의 긴장 이완은 Na⁺- 및 voltage-dependent 하였다.

考 按

尿管 平滑筋은 다른 平滑筋과는 달리 다음과 같은 特徵을 가지고 있다.

1. 기니피 尿管은 腎臟 近位端을 제외하고는 自發적인 活動電位가 일어나지 않으나 休息期에도 安靜電位가 維持되고 원위 子宮이나 기니피 結腸紐와는 달리 K⁺脫分極 收縮時에는 強直性 緊張을 일으킨다 (Washizu, 1967)고 한다.

2. 細胞內 또는 外로 加한 電氣刺戟으로 活動電位가

생겼을 때는 원위나 고양이 尿管과는 달리 기니피 尿管에서는 持續적인 脫分極 (plateau) 時에도 반복적인 spike 가 重復하여 (superimposed) 일어난다 (Irisawa 및 Kobayashi, 1962; Washizu, 1966)고 한다.

3. TTX 는 尿管의 膜電位나 Na⁺-sensitive plateau 에 대하여 하등의 作用이 없을 뿐 아니라 活動電位の 振幅이나 傳導速度 등에 대하여도 影響을 미치지 않는다고 한다 (Kobayashi, 1969; Kuriyama 및 Tomita, 1970).

4. 한편 尿管은 正常的으로는 尿集合管의 近位部에 있는 pacemaker 에서 活動電位를 發生시켜 遠位部로 전파되어 감으로서 연동운동을 일으켜 尿管 下方으로 移動시키나 어떤 條件에서는 다른 部位의 尿管 細胞에서도 잠재 pacemaker 機能을 가지고 있어서 연동운동을 일으킬 수 있다고 하였다 (Shiratori 및 Kinoshita, 1961; Tindall, 1972; Weiss, 1976).

이와같은 기니피 尿管 平滑筋의 特徵이 이 實驗의 OFF response 의 發生과 어떠한 關聯이 있는지에 대하여는 推定하기 어려우나 興味있는 現象임에는 틀림없다.

기니피 尿管을 in vitro 로 현수하고 EFS 를 加할 때 두 收縮 (spike) 을 일으키는데 ON response 는 0.1~0.3 sec, OFF response 는 0.2~1.0 sec latency 를 가지고 있고 ON response 後에는 刺戟이 持續하는 동안 spike 性 收縮이 일어난 後 筋緊張은 baseline 보다 조금 높게 維持되었다. 그리고 OFF response 는 ON

response에 비하여 pulse duration이 길고 振動數가 높은 刺戟을 要하였다. 한편 溫度의 變化에 對해서도 ON response는 큰 變化를 보이지 않으나 OFF response는 溫度가 下降됨에 따라 振幅이 增加되고 溫度가 上昇됨에 따라 減少 또는 消失되었고 K^+ -free Tyrode 液 內에서는 OFF response는 溫度의 變化에 鈍하였고, 成績에는 없지만 Tyrode 液 內 K^+ 을 5 배로 增加시킬 경우 OFF response의 發生 및 振幅의 크기는 현저히 增加되었다. 이와같은 溫度의 影響은 平滑筋 膜傳導率에 變動을 주기 때문이라고 한다(DeCarle et al., 1977).

OFF response는 ON response에 비하여 膜電位가 약간의 脫分極이 된 狀態에서 더 容易하게 發生될 수 있고 또한 振幅도 增大되고 OFF response는 ON response에 비하여 強한 刺戟 後에 일어난다는 點 등은 OFF response의 正體를 暗示하고 있는 것으로 思料된다.

Ca^{++} -free Tyrode 液에서 9~10 分後 時間 經過에 따라 兩 收縮이 모두 減少되고 減少되는 比率도 거의 비슷하였으나 Ca^{++} -free 液에서 5 分間 放置한 후 0.12 train per sec로 5 초간 連續 刺戟을 加할 때는 ON response는 徐徐히 減少되다가 消失하는데도 OFF는 相當한 時間 그대로 維持되었다. 이와 같은 現象은 EDTA나 Ca^{++} influx를 차단하는 Mn^{++} 을 處理하였을 때도 ON 및 OFF의 運命은 마찬가지였다. ON response가 減少 또는 消失되는 것은 $MnCl_2$ 에 의한 活動電位의 減少에도(Kobayashi, 1969) 다소 影響을 받는다고 하겠으나 Ca^{++} -free나 EDTA에 의해서도 ON response가 크게 影響을 받는 것은尿管의 興奮—收縮 連結에 있어서 ON response는 細胞外의 free Ca^{++} 에 크게 依存하기 때문일 것으로 간주되며 OFF는 細胞 內의 bound 또는 저장 Ca^{++} 에 주로 依存하였다고도 思料되는 바이다. Fox 및 Daniel(1979)도 食道의 OFF response 機轉에서 비슷한 結果를 관찰하여 報告하였다.

더욱 興味있는 點은 phosphodiesterase를 抑制시켜 細胞內 cyclic AMP를 增加시키는 theophylline 및 caffeine에 依하여 ON은 크게 影響을 받지 않는 濃度에서 OFF는 현저히 抑制 또는 消失되었다. 對照의 平滑筋 弛緩劑이면서 cyclic GMP를 增加시키는 것으로 알려진 sodium nitroprusside(Schultz, 1977)는 비록 高濃度이긴 하나 OFF에는 作用하지 않고 ON을 抑制시켰다. 이와같은 nitroprusside의 作用은 토끼나 쥐의 血管에서 Ca^{++} influx에는 關係없이 Ca^{++} efflux를 현저히 增加시키는 作用이 있고(Zsoter et al.,

1977), tonic contraction에 選擇적으로 作用한다는 點(Golenhofen, 1976)을 감안하면 興味있는 現象이다. Cyclic AMP가 細胞內 sarcoplasmic reticulum의 外層에서 phosphorylation을 촉매하여 Ca^{++} pump를 活性化시켜서 細胞內 free Ca^{++} 을 낮추므로서 弛緩을 招來한다(Tada et al., 1975)는 보고를 참고해 볼 때 OFF response는 ON response에 비해 주로 저장 Ca^{++} 을 利用할 것이라는 事實이 더욱 確實시 된다.

비록 TTX는尿管에서는 作用하지 않는다 하더라도(Kobayashi, 1969) 自律神經封鎖藥物들이 아무런 作用을 나타내지 못하는 點을 볼 때 ON 및 OFF response는 2 msec EFS parameters에 依하여(洪等, 未發表) 神經性 物質들의 遊離에 基因한 것으로 간주된다. 그러나尿管에도 nonadrenergic, noncholinergic 抑制性 纖維가 存在하는지에 對하여는 아직 報告를 接할 수 없기 때문에 言及하기 어렵다.

低 sodium Tyrode 液으로서 50% Na^+ 을 sucrose로 代置하고 30 分間 放置한 後 50 V 電源으로 刺戟時 ON과 OFF사이의 弛緩은 消失되고 強直性 收縮이 持續되다가 刺戟의 中止와 함께 緊張이 恢復되다가 OFF의 흔적을 남겼다. 이는 電源을 40, 30, 20 및 15 V로 減少시킬 때 ON과 OFF사이의 緊張은 消失 또는 減少되었다. 비록 低 Na^+ 에서도 ON 및 OFF response는 그대로 남아 있었다. 興味있는 點은 ON spike 後의 弛緩은 Na^+ -dependent하고 이와같은 現象은 Na^+ - Ca^{++} exchange에 依하여 Na^+ 에 의한 Ca^{++} efflux가 增加된다는 Reuter等(1974)과 Ma 및 Bose(1977)의 假說로서 설명이 될 수 있을 것으로 思料된다.

Opossum 食道—胃 接合部에 있어서 ON 및 OFF response는 상당히 많이 研究되고 있는 바(Christensen 및 Lund, 1969) 이는 食道橫走筋의 反應으로서 中樞神經과는 別도로 嚥下로 因한 平滑筋의 反射作用에 依한 蠕動運動의 一部라고 하였다.

한편 기니픽 結腸紐(Bennett, 1966)나 기니픽 盲腸(Campbell, 1966)에서도 壁內 抑制性 纖維의 興奮後에 rebound excitation이 惹起된다고 하였다. 이와같은 腸이나 食道에서 일어나는 rebound excitation 또는 OFF response는 抑制性 纖維의 興奮으로 hyperpolarization이 先行하고 이에 隨伴하여 反應性으로 筋의 消極的인 收縮이 일어난다고 한다(DeCarle et al., 1977).

이 實驗으로서는 기니픽尿管의 電氣刺戟 後에 發生하는 OFF response가 生理學的으로 어떠한 意義가 있는지, 또 그 機轉이 食道에서나 腸에서 보는 바와 같

은 nonadrenergic inhibitory nerve의興奮의 先行後에 나타나는 後收縮인지는 확실하게 추측하는 어렵고 비록 平滑筋의 活動電位는 TTX의 作用을 받지 않는다 하더라도 intramural inhibitory nerve가 存在한다면 이는 TTX의 作用을 받을 것으로 생각되어 神經性의 影響을 배제할 수 있으나 이에 對한 報告는 接하기 어려워 그 正體를 짐작하기가 어렵다. 단지 OFF response가 電氣刺戟에 의한 生物學的 反應일 것이라 고만 思料되는 바이고 이에 대하여 추후 研究가 있을 것이다.

要 約

기니픽尿管을 in vitro로 電氣刺戟할 때 일어나는 ON response와 電氣刺戟 中止時에도 spike性 OFF response가 일어남을 觀察하고 이에 대한 特性을 검토하였기에 要約한다.

1. 기니픽尿管을 in vitro로 5초간 連續으로 電氣刺戟(EFS)時 두 收縮을 일으켰다. EFS 시작 후 0.1~0.3 sec에 ON response가 일어나고 EFS 종료 후 0.2~1.0 sec에 OFF response가 惹起되었다. OFF response를 일으키는 連續刺戟에는 ON response에 比하여 긴 pulse duration과 높은 frequency가 要求되었다.

2. Muscle chamber 內의 溫度를 37°C에서 22°C로 減少시켰을 때는 ON의 振幅은 減少하거나 輕微하였고 OFF는 增加되었으며, 溫度 42°C에서는 OFF가 減少 또는 消失되던 것이 K⁺-free solution에서는 덜 減少되었다. ON 및 OFF response의 latency는 溫度의 下降으로 增加되었고 그 程度는 兩者가 비슷하였다.

3. 低 Ca⁺⁺濃度, 2 mM EDTA, 1 mM Mn⁺⁺ 및 1 μM verapamil 등에 의해 反復刺戟時 ON은 쉽게 消失되고 OFF는 남아 있었다.

4. 10 μM theophylline은 ON 振幅은 減少시키지 않고 OFF response만 消失시키고, 1 mM sodium nitroprusside는 OFF에는 作用하지 않고 ON 振幅을 우선적으로 減少시켰다.

5. ON 및 OFF response는 TTX, atropine, phentolamine 등 神經性封鎖藥物에 의하여 影響을 받지 아니할 뿐 아니라 pyrilamine이나 methysergide에 의하여도 作用을 받지 아니하였다.

6. 50% 低 sodium에 의하여는 ON 및 OFF response는 影響을 받지 아니하였고 ON과 OFF 사이의 緊張은 低 sodium에서 增加되었고, voltage 減少에 의하여 原狀으로 恢復되었다.

以上の 成績으로 보아 ON response는 細胞 外의 free Ca⁺⁺에 依存하고 OFF response는 細胞內에 저장되거나 膜에 bound된 Ca⁺⁺에 더 依存하며, 生物學的 現象에 依하여 나타나는 反應일 것으로 思料되는 바이다.

REFERENCES

- 1) Bakuntz, S.A. and Vantsian, V. Ts.: *The electrophysiological characteristics of the smooth muscles of the ureter.* In: *Physiology of Smooth Muscle*, edited by E. Bülbiring and M.F. Shuba, Raven, New York, pp. 121, 1976.
- 2) Bennett, M.R.: *Rebound excitation of the smooth muscle cells of the guinea pig taenia coli after stimulation of intramural inhibitory nerves.* *J. Physiol.*, 185:124, 1966.
- 3) Campbell, G.: *Nerve-mediated excitation of the taenia of the guinea-pig caecum.* *J. Physiol.*, 185:148, 1966.
- 4) Christensen, J. and Lund, G.F.: *Esophageal responses to distension and electrical stimulation.* *J. Clin. Invest.*, 48:408, 1969.
- 5) Day, M.D. and Warren, P.R.: *A pharmacological analysis of the responses to transmural stimulation in isolated intestinal preparations.* *Br. J. Pharmac. Chemother.*, 32:227, 1968.
- 6) DeCarle, D.J., Szabo, A.C. and Christensen, J.: *Temperature dependence of responses of esophageal smooth muscle to electrical field stimulation.* *Am. J. Physiol.*, 232(4):E432, 1977.
- 7) DeCarle, D.J., Christensen, J., Szabo, A.C., et al.: *Calcium dependence of neuromuscular events in esophageal smooth muscle of the opossum.* *Am. J. Physiol.*, 232(6):E547, 1977.
- 8) Fox, J.E.T. and Daniel, E.E.: *Role of Ca⁺⁺ in genesis of lower esophageal sphincter tone and other active contractions.* *Am. J. Physiol.*, 237(2):E163, 1979.
- 9) Golenhofen, K.: *Theory of P and T systems for calcium activation in smooth muscle.* In: *Physiology of Smooth Muscle*, edited by E. Bülbiring and M.F. Shuba, Raven, New York, pp. 197, 1976.

- 10) Hong, K.W., Biancani, P. and Weiss, R.M.: *Pharmacology of guinea pig ureter* (unpublished).
- 11) Irisawa, H. and Kobayashi, M.: *Intracellular action potentials of guinea pig ureter. Proc. Japan Academy*, 38:171, 1972.
- 12) Kobayashi, M.: *Effect of calcium on electrical activity in smooth muscle cells of cat ureter. Am. J. Physiol.*, 216:1279, 1969.
- 13) Kuriyama, H. and Tomita, T.: *The action potential in the smooth muscle of the guinea pig taenia coli and ureter studied by the double sucrose-gap method. J. gen. Physiol.*, 55:147, 1970.
- 14) Ma, T.S. and Bose, D.: *Sodium in smooth muscle relaxation. Am. J. Physiol.*, 232(1):C59, 1977.
- 15) Reuter, H., Blaustein, M.P. and Haeusler, G.: *Na-Ca exchange and tension development in arterial smooth muscle. Phil. Trans. Roy. Soc. London*, 265:87, 1974.
- 16) Schultz, G.: *Effects of sodium nitroprusside and other smooth muscle relaxations on cyclic GMP formation in smooth muscle and other tissue. Symposium in 3rd international conference on cyclic nucleotides, in New Orleans, 1977.*
- 17) Shiratori, T. and Kinoshita, H.: *Electromyographic studies on urinary tract. III. Influence of pinching and cutting the ureters of dogs on their EMGs. Tohoku T. Exp. Med.*, 73:159, 1961.
- 18) Tindall, A.R.: *Preliminary observations on the mechanical and electrical activity of the rat ureter. J. Physiol.*, 223:633, 1972.
- 19) Tada, M., Kirchberger, M.A., Li, H.C., et al.: *Interrelationships between calcium and cyclic AMP in the mammalian heart. In: Calcium transport in contraction and secretion edited by E. Carafoli, North-Holland Publishing Co., pp. 373, 1975.*
- 20) Washizu, Y.: *Grouped discharges in ureter muscle. Comp. Biochem. Physiol.*, 19:713, 1966.
- 21) Washizu, Y.: *Membrane potential and tension in guinea-pig ureter. J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 158:445, 1967.
- 22) Weiss, R.M.: *Initiation and organization of ureteral peristalsis. Urology Survey*, 26:2, 1976.
- 23) Zsoter, T.T., Henein, N.F. and Wolchinsky, C.: *The effect of sodium nitroprusside on the uptake and efflux of ⁴⁵Ca from rabbit and rat vessels. Eur. J. Pharmacol.*, 45:7, 1977.