

기니피그 위 평활근의 기계적 및 전기적 활동에 대한 아데노신 효과

서울대학교 의과대학 생리학교실

김희진 · 고광욱 · 서인석 · 김기환

(1987년 11월 9일 접수)

= Abstract =

Effects of Adenosine on the Mechanical and Electrical Activities of Guinea-pig Stomach

Heui Jeen Kim*, Kwang Wook Ko*, In Suk So** and Ki Whan Kim

Department of Physiology and Pediatrics, College of Medicine, Seoul National University and **In Ha University*

The effects of adenosine on the mechanical contractions and electrical activities were investigated in guinea-pig stomach. Spontaneous contractions of the antral region were recorded with force transducer, and the phasic contractions of fundic region were induced by electrical field stimulation. Electrical responses of smooth muscle cells were recorded using glass capillary microelectrodes filled with 3M-KCl. Field stimulation was applied transmurally by using a pair of platinum wire (0.5 mm in diameter) placed on both sides of tissue. All experiments were performed in tris-buffered Tyrode solution which was aerated with 100% O₂ and kept at 35°C.

The results obtained were as follows.

- 1) Adenosine suppressed the spontaneous contractions of antrum in a dose-dependent manner.
- 2) The inhibitory effect on antral spontaneous contractions was not influenced by the administration of guanethidine (5×10^{-6} M) and atropine (10^{-6} M), or in the presence of dipyridamole (10^{-7} M).
- 3) The phasic contractions of fundus induced by electrical field stimulation, which disappeared rapidly by the addition of tetrodotoxin (3×10^{-7} M), were potentiated by adenosine in the presence of guanethidine.
- 4) Adenosine decreased the amplitude and the maximum rate of rise of slow waves, and the increased amplitude and rate of rise evoked in the high calcium solution or in the presence of TEA were decreased by adenosine.
- 5) The non-adrenergic, non-cholinergic inhibitory junction potential (IJP) was inhibited by adenosine in the antral region, while the excitatory junction potential (EJP) in the fundic region was potentiated.

From the above results, the following conclusions could be made.

- 1) Adenosine suppresses the spontaneous contractions of antrum strip by the decrease in amplitude and rate of rise of slow waves.
- 2) The release of neurotransmitter(s) from non-adrenergic, non-cholinergic nerve terminals is inhibited by adenosine.

Key Words: Guinea-pig's gastric circular smooth muscle, Slow waves, EJP, IJP, Adenosine

서 론

아데노신(adenosine)이 심장에 대하여 억제적 영향을 미친다는 Drury & Szent-Györgyi (1929)의 최초 보고 이래 많은 실험보고가 계속되었다. 이 내인성 물질은 심박수를 감소시키고, 심근수축력도 약화시키는 작용을 가지고 있다는 사실이 잘 알려져 있다(Drummond & Severson, 1979; Burnstock, 1980; Kim & Ho, 1984). 이 물질은 또한 강력한 관상동맥 확장제로서의 기능도 보유하고 있다(Berne, 1963). 아데노신은 심장이외에도 콩팥, 지방조직, 뇌, 정관, 골격근, 혈관조직 및 위장관등 여러 조직에서 다양하게 작용하고 있음이 입증되어 왔다(Hedqvist et al., 1976; Verhaeghe et al., 1977; Hedqvist et al., 1978; Gustafsson et al., 1978; Hedqvist & Fredholm, 1979). 위장관에 대한 아데노신의 효과는 기니피그(guinea-pig) 회장에서 신경말단으로부터 아세틸콜린(acetylcholine) 유리를 억제시킨다는 보고가 있다(Gustafsson et al., 1978; Fredholm et al., 1983). 자율신경계에는 대표적인 adrenergic nerve와 cholinergic nerve 이외에 non-adrenergic, non-cholinergic nerves가 보고 되었다(Burnstock et al., 1963). 이러한 종류의 신경은 많은 척추동물의 위장관에서 존재함이 보고확인되었고 또한 폐, 방광, 기도, 식도, anococcygeus, seminal vesicles 및 순환계 일부조직에서도 보고되었다(Burnstock, 1981). 이 non-adrenergic, non-cholinergic nerves는 소화관내에서 음식물의 추진운동과 관련된, 즉 식도하부와 항문내 괄약근의 반사성 확장, 위의 수용성 이완 및 연동운동시 항문축 이완현상등에 참여하는 것으로 보인다(Burnstock & Costa, 1973). 기니피그 위에도 그 신경이 존재함이 알려져 있다(Komori & Suzuki, 1986).

아데노신의 작용기전을 보고한 심장 및 혈관에서의 예를 보면, 심근세포막을 통한 Ca^{2+} 유입을 억제하여 심근 수축력을 억제시킨다는 설(Schrader et al., 1975)과 교감신경 말단에 작용하여 노아드레날린(noradrenaline) 유리를 저하시켜 간접적으로 수축력을 저하시킨다는 설이 있다(Hedqvist & Fredholm; 1979). 혈관확장기전으로 아데노신은 특히 작

은 관상동맥(intramural coronary artery)에 작용하여 Ca^{2+} -내향전류(Ca^{2+} -inward current)를 차단하여 확장을 일으킨다는 설(harder et al., 1979)과 심근에서와 같이 일반 혈관에서도 조직내 교감신경말단에 작용하여 노아드레날린 유리를 저하시켜 간접적으로 혈관확장을 유발시킨다는 설이 있다(Verhaeghe et al., 1978). 이상의 여러 실험보고를 종합하여 볼 때 아데노신은 세포막을 통한 Ca^{2+} 이동에 억제적 영향을 주고 있음을 알 수 있다.

Non-adrenergic, non-cholinergic nerves 중에서 adenosine triphosphate (ATP)를 principal transmitter로 이용하는 자율신경을 purinergic nerve (Burnstock, 1971)라고 명명하였으며, 그 이후 많은 연구진전이 있었는 바, 이외에도 serotonin, GABA, dopamine, 많은 polypeptides (enkephalin/endorphin, vasoactive intestinal polypeptides (VIP), Substance P, bombesin, somatostatin, neurotensin, cholecystokinin(CCK) 등이 흥분전달 물질로 제외되고 있다(Burnstock 1986).

체내에서 아데노신은 ATP로부터 생산되는데, 심근에서는 정상상태에서도 아데노신이 세포내에서 생산되어 간질액 및 혈액으로 유출되고, 특히 저산소증이나 산소를 많이 필요로 하는 상황에서는 더욱 많은 양의 아데노신이 심근세포 내에서 ATP로부터 생산되어 간질액으로 흘러나와 관상동맥에 작용하여 혈관확장을 일으켜 저산소증을 없애는 조절효과를 나타낸다(adenosine hypothesis. Berne, 1963). 그러나 Burnstock(1981)이 말하는 purinergic nerve의 경우에는 이 신경이 흥분하면 신경말단에서 ATP가 유리되고 신경근접합부에서 5'-nucleotidase에 의하여 아데노신이 생산되어 신경흥분 조절인자(neuromodulator)로 작용한다고 주장하고 있다.

본 연구는 기니피그 위 운동에 대한 아데노신의 작용기전을 밝혀보고자, 기계적 수축과 전기적 활동(특히 서파와 접합부 전압)에 대한 아데노신의 효과를 측정분석하여 이를 토대로 아데노신의 작용부위와 non-adrenergic, non-cholinergic nerve에 대한 조절인자로서의 역할을 규명하였다.

실험 방법

체중 300 g 내외되는 기니피그의 후두부를 강타하

고 경동맥을 절단하여 실험시켜 죽사시킨 뒤 개복하여 위를 적출하였다. 실온에서 100% O₂로 평형을 이루고 있는 phosphate-완충 Tyrode 용액 (NaCl 147, KCl 4, MgCl₂ · 6H₂O 1.05, CaCl₂ · 2H₂O, NaH₂PO₄ · 2H₂O 0.42, Na₂HPO₄ · 12H₂O 1.81, glucose 5.5 mM, PH 7.35)으로 채워진 준비용기내에서 유문동(antrum)과 위저(fundus)부를 분리절제하고 소만부위를 따라 절개하고 열어 각각 위점막층을 노출시켰다. 현미경 밑에서 점막층을 박리하여 윤상근(circular muscle)이 표면으로 노출되게끔 깨끗하게 분리하였다. 조직 연구재료는 50마리 기니피그에서 유문동과 위저부에서 점막층을 분리해내고 남은 위조직을 윤상근의 주행방향으로 길이 10 mm, 넓이 2 mm(wet weight 5 mg내외) 정도로 만들고 1시간정도 충분한 산소를 공급하면서 실온에서 회복시켰다.

기계적 수축에 관한 실험(자발적 수축 혹은 전장 자극으로 유발시킨 수축)은 준비된 위조직의 양단을 근육고정기에 묶고 수직형 실험용기(vertical chamber, 용량 100 ml)를 이용하여 35°C에서 완전히 이완시킨 상태로 1시간 이상 새환경에서 회복시킨 뒤 실험을 시작하였다. 실험용액은 35°C에서 100% O₂로 평형을 이루고 있는 tris-완충 Tyrode 용액(NaCl 158, KCl 4, CaCl₂ · 2H₂O, MgCl₂ · 6H₂O 1.05, tris · HCl 10, glucose 5.5 mM, PH 7.35)을 사용하였다. 수축곡선의 기록은 근육고정기와 장력변환기(Grass FT-03)를 연결시켜 등장성 수축(isometric contraction) 곡선을 기록기(Device physiograph)에 기록하였다. 자발적 수축(spontaneous contraction)을 하는 유문동 조직은 수축빈도가 어느정도 일정하게 나타날 때, 근육의 길이를 단계적으로 늘여 길이-장력 곡선(length-tension curve)을 그려 최적길이(optimal length)를 정한 뒤, 이 길이에서 모든 실험조건을 가하였다. 그러나 자발적 수축이 거의 없거나, 있더라도 매우 약한 위저부에 대하여는 조직과 나란히 설치된 두개의 백금전극을 통하여 전장자극(electrical field stimulation)을 가하여 위상성 수축(phasic contraction)을 유발시키면서, 마찬가지로 최적길이를 구한 뒤 실험을 진행시켰다.

윤상근의 전기활동을 기록하기 위하여 용량 2 ml 정도되는 수평형실험용기(horizontal chamber)를 사용하였다. 용기내에 설치된 고무판에 위조직 절편

을 작은 핀으로 고정시킨 뒤 35°C에서 100% O₂로 평형을 이루고 있는 tris-완충 Tyrode 용액을 2~3 ml/min 속도로 1시간이상 관류시켜 새환경에서 완전하게 회복되도록 하였다. 윤상평활근의 전기활동은 3 M-KCl로 채운 유리 미세전극(glass microelectrode)을 점막쪽으로부터 세포내에 삽입하여 펜기록기(pen recorder)에 기록하였고, 전극은 전극 끝저항(tip resistance)이 40~80 MΩ 되는 것만을 골라서 사용하였다. 조직 양편에 백금 자극전극(직경 0.5 mm)을 설치하고, 자극기(Grass S88)를 통하여 전장자극을 가하여 미세전극을 통하여 신경-근 부위의 접합부 전압(junction potential)을 기록하였다. 조직내에 매몰되어 존재하는 신경들을 자극하기 위하여 사용된 자극파는 구형파(square pulse)로서, 폭(기간)이 50~100 μs(0.05~0.1 ms)이고 강도가 10~50 V 되는 것을 한번 혹은 연속적으로 자극을 가하였다. 이때 세포내에 꽂는 기록전극은 자극전극으로부터 300 μm 이내에 설치하고 전압변동을 기록하였다.

실험에 사용된 약물은 Adenosine (Sigma), Aminophylline (Sigma), Atropine sulfate (Sigma), Dipyrindamole (Persantin, Boehringer-Ingelheim), Guanethidine sulfate (Tokyo Kasei), Tetraethylammonium chloride (Merck), 및 Tetrodotoxin (Sankyo) 등이다.

실 험 성 적

1. 전기적 활동의 부위별 비교

위의 부위별로 전기적 활동(electrical activity)의 특성을 그림 1에 나타내었다. 유문동 부위에서는 막전압이 자발적으로 주기적인 동요를 보이는 소위 서파(slow wave)가 기록되고 있으나, 위저부에서는 서파가 거의 발생되지 않거나 있더라도 그 크기가 작았다(그림 2, A). 전장자극으로 유리 미세전극에 잡힌 접합부 전압을 보면, 위저부에서는 흥분성 접합부 전압(excitatory junction potential, EJP)이 기록되었으나 유문동에서는 억제성 접합부 전압(inhibitory junction potential, IJP)이 발생되었다(그림 2, B).

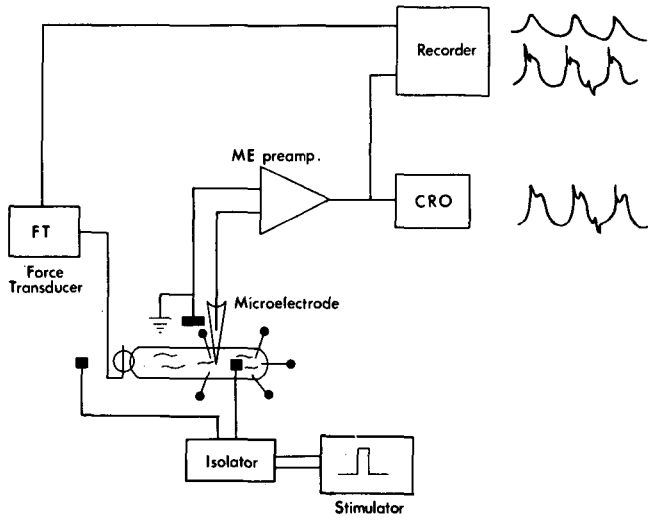


Fig. 1. Schematic diagram of experiment.

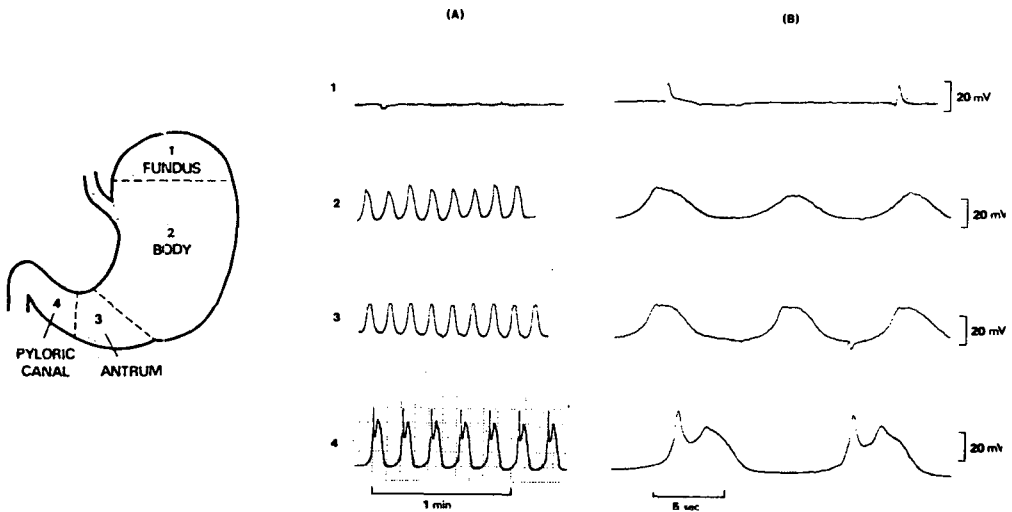


Fig. 2. Electrical activities (slow waves, junction potentials) recorded from smooth muscle cells in the regions shown in the schematic representation of guinea-pig stomach. (A) Slow waves recorded with slow tracing speed. (B) Junction potentials with fast tracing speed. Note that the smooth muscle cells in the fundic region show electrically quiescent responses and excitatory junction potentials (EJP), whereas those in the antral region show regular slow waves and inhibitory junction potentials (IJP).

2. 서파와 수축의 상호관계

서파와 수축의 관계를 비교하기 위하여 전기적 활동과 기계적 수축곡선을 동시에 기록한 것을 그림 3에 보여주고 있다. 그림 왼쪽의 대조실험에서 보면

유문동 부위에서 규칙적으로 발생하는 자발적 서파는 수축과 흥분-수축 연결이 잘 되고 있음을 보여주고 있다. 즉 가시전압 (spike action potential)이 발생되지 않더라도 크기는 작지만 수축이 서파에 의하여 유발되고 있음을 보여주고 있다. 세포막의 K-전도

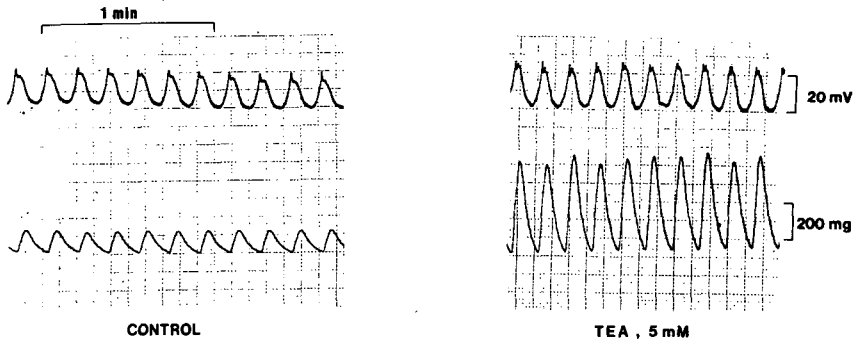


Fig. 3. Slow wave-contraction coupling without Ca^{2+} action potentials in guinea-pig stomach. Spontaneous contractions developed by slow waves recorded from the antral region in the absence of TEA (left control tracing). The contractions potentiated by changes in slow waves in the presence of TEA (5 mM).

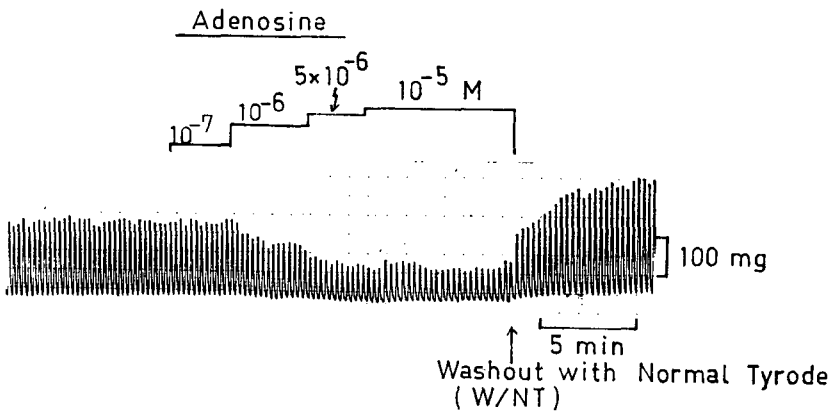


Fig. 4. Effects of adenosine on the spontaneous contractions recorded from antral region of guinea-pig stomach. Adenosine suppressed the antral spontaneous contractions in a dose-dependent manner. The inhibitory effect appeared at the concentration of 10^{-6} M and increased in parallel with the increase in adenosine concentration.

도(K-conductance)를 감소시키는 작용을 가진 것으로 알려진 tetraethylammonium(TEA) 5 mM을 투여하면 막전압이 약간 감소되면서 서파의 발생빈도, 크기 및 탈분극 속도가 증가되고 불완전한 가시전압(abortive spikes)이 나타남을 볼 수 있다(그림 3 오른쪽). 동시에 기록된 수축곡선도 대조시에 비하면 서파에 나타난 변화와 더불어 5배정도나 커져 있음을 보여주고 있다.

3. 자발적 수축에 대한 아데노신 효과

자발적 수축을 하고있는 유문동 조직에 아데노신

을 투여하여 단계적으로 관류액내 농도를 높일 경우에, 수축크기가 농도에 비례하여 감소되는 것을 그림 4에 나타내었다. 아데노신 농도가 10^{-7} M일 때는 별로 변화가 없으나, 10^{-6} M부터 수축크기가 억제되었고 농도를 높일수록 억제정도가 강화되었으며 정상 Tyrode 용액으로 갈아주면 수축력은 빠른 속도로 회복되었다. 그림 5에 아데노신의 자발적 수축 억제작용에 대한 용량-반응 관계를 나타내었다. 이 곡선에서 수축의 크기가 대조시의 반으로 감소되는 소위 50% 억제농도(IC_{50})가 5×10^{-6} M 정도임을 알 수 있었다.

자발적 수축에 대한 아데노신의 억제작용이, 신경-근 접합부의 흥분전파 차단제 즉 노아드레날린 차단제인 guanethidine (5×10^{-6} M)과 아세틸콜린 차

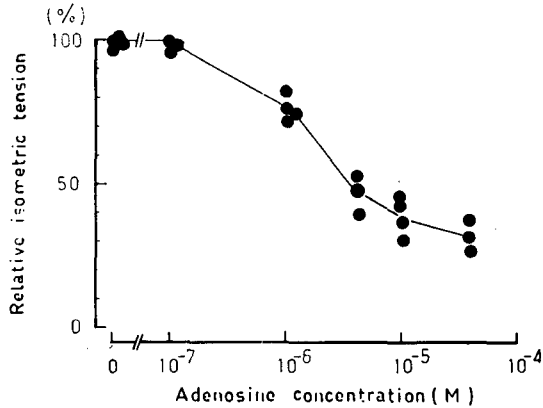


Fig. 5. Dose-dependency of the effects of adenosine on spontaneous contractions in the antrum of guinea-pig stomach. Adenosine decreased the amplitude of spontaneous contraction dose-dependently from the concentration of 10^{-6} M and IC_{50} was about 5×10^{-6} M.

단제인 atropine (10^{-6} M)을 동시에 투여하여 전처치하고 아데노신을 후에 접촉시킬 경우, 어떻게 나타나는가를 그림 6(A)에 표시하였다. 자발적 수축은 흥분전파 차단제 투여시에도 별로 변화가 없었고, 여기에 아데노신 (10^{-5} M)을 투여하자 즉시 수축크기가 감소되었으며, 정상 용액으로 바꿔주자 수축력은 즉시 회복되었다. 이러한 현상은 자발적 수축이 근원성(myogenic origin)으로 발생되고 있고, 아데노신의 작용부위가 평활근 쪽임을 암시하고 있다. 그림 6(B)에 아데노신의 세포막 통과를 막는 것으로 알려진 dipyridamole (10^{-7} M) 존재시 나타나는 아데노신 효과를 나타내었다. 아데노신의 수축력 억제작용은 dipyridamole 존재시에도 별로 영향을 받지 않고 있는 사실로 보아, 아데노신은 평활근 세포내가 아니라 세포막에 어떤 작용부위를 가지고 있는 것으로 판단된다.

4. 전기자극 유발 위상성 수축에 대한 아데노신 효과

위저부 조직절편에 전장자극으로 위상성 수축을

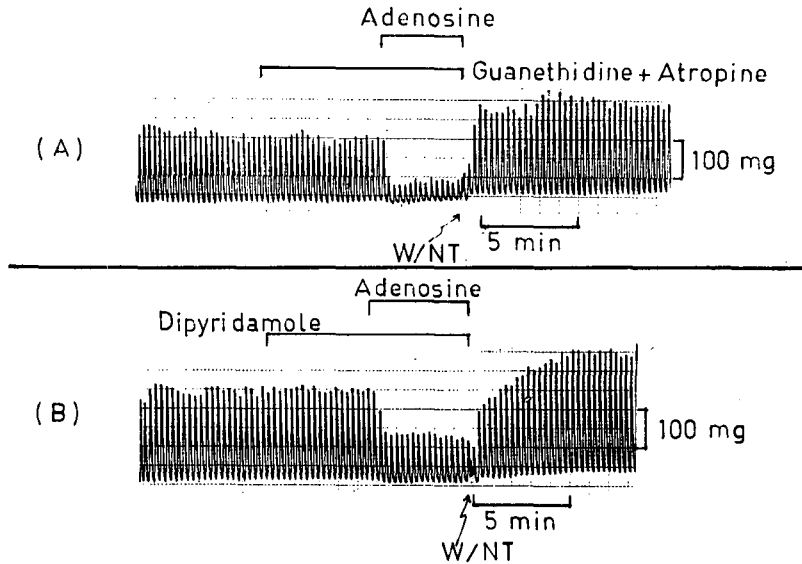


Fig. 6. Effect of neurotransmission blockers (A), dipyridamole (B) on the inhibitory effect of adenosine in the antrum of guinea-pig stomach. Spontaneous contractions were not influenced by the addition of guanethidine (5×10^{-6} M) and atropine (10^{-6} M) and even in the presence of blockers (A), or dipyridamole (10^{-7} M) (B), adenosine (10^{-5} M) suppressed spontaneous contractions in a similar manner.

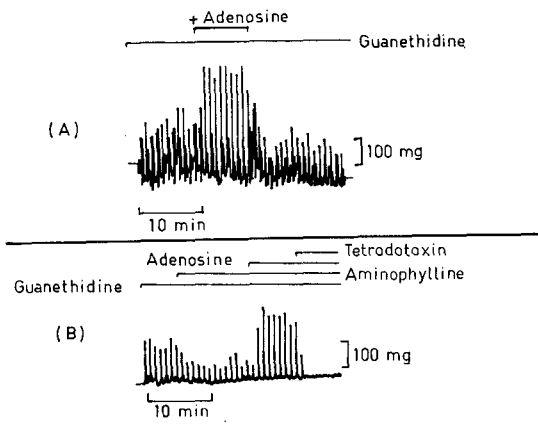


Fig. 7. Effects of adenosine on the phasic contractions induced by electrical field stimulation in the fundus of guinea-pig stomach. Adenosine increased the amplitude of contractions to transmural stimulation (20 Hz, 100 pulses, 1 ms, supramaximal voltage) at 1 min interval (A). The responses to transmural electric stimulation, which disappeared rapidly by the addition of TTX (3×10^{-7} M), were suppressed by aminophylline (10^{-5} M) and fast recovered by adenosine (5×10^{-5} M) (B).

유발시켰다. 전장자극은 1초마다 5초씩 20 Hz의 구형파를 두개의 백금전극을 통하여 가하였는데, 구형파의 폭(기간)은 1 ms, 크기(강도)는 supramaximal intensity를 사용하였다. 이와같은 조건, 즉 자극파의 폭이 짧은 구형파로 자극을 하면 조직내의 신경을 자극하여 수축이 유발됨이 그림 7(B)에 나타나 있다. 즉 신경흥분 전파차단제인 tetrodotoxin (TTX)을 3×10^{-7} M 투여 즉시 유발수축이 곧 사라지는 현상이 이를 뒷받침 해주고 있다. 그림 7(A)에서 보면, guanethidine(5×10^{-6} M) 존재하에서 아데노신(10^{-5} M)은 수축의 크기를 오히려 증가시키고 있다. 그림 하단 (B)에서도 aminophylline(10^{-5} M)으로 상당히 억제되었던 수축이 아데노신(5×10^{-5} M) 추가투여로 커졌다. 이러한 실험결과들 ((A)와 (B))은 아데노신이 조직내의 신경중 non-adrenergic, non-cholinergic nerve에 작용하여 흥분전달물질의 유리를 억제시킴으로써 수축크기가 증가되었고, aminophylline과 아데노신은 이 신경말단에서 서로 길항적으로 작용하고 있음을 암시하고 있다고 해석된다.

5. 접합부 전압의 특성

위저부와 유문동 부위에서 기록되는 흥분성 접합부 전압(EJP)과 억제성 접합부 전압(IJP)에 대한 세포의 Ca^{2+} 효과를 그림 8과 그림 9에 나타내었다.

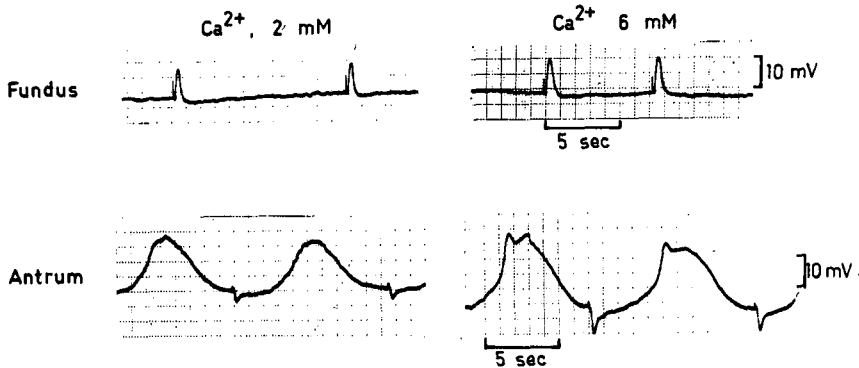


Fig. 8. Effect of high Ca^{2+} (6 mM) on junction potentials recorded from the fundus and antrum of guinea-pig stomach. Transmural nerve stimulation by a single pulse (0.1 ms in duration and 30 V in intensity) evoked EJP in the presence of guanethidine (5×10^{-6} M) at fundus, and IJP in the presence of guanethidine (5×10^{-6} M) and atropine (10^{-6} M) at antrum respectively. The amplitudes of EJP and IJP were increased in high Ca^{2+} solution.

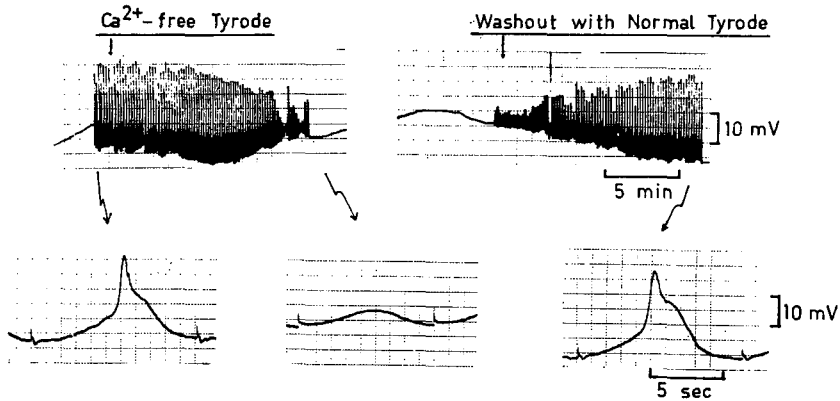


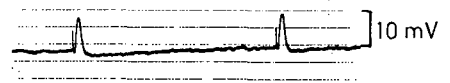
Fig. 9. Effects of amplitudes of the slow waves and IJP induced by transmural stimulation in the antrum of guinea-pig stomach. Slow waves disappeared gradually in Ca^{2+} -free Tyrode solution, and IJP was also not evoked by the same transmural electrical stimulation in Ca^{2+} -free solution (lower middle tracing).

그림 8은 세포 Ca^{2+} 농도를 대조시 2 mM로부터 6 mM로 높였을 경우에 나타난 변화를 보여준 것으로서, 위저부에서는 guanethidine (5×10^{-6} M)으로 교감신경 자극효과를 차단시킨 상태에서 Ca^{2+} 효과를 보았고, 유문등 조직에서는 guanethidine (5×10^{-6} M)과 atropine (10^{-6} M)을 동시에 전처치하여 교감신경과 부교감신경 자극효과를 차단시킨 상태에서 구한 실험결과이다. 전기자극은 0.1 ms, 30 V의 단일 구형파로 신경을 자극하였다.

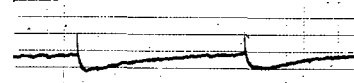
이 그림에서 보면 위저부의 EJP나 유문등의 IJP 크기가 Ca^{2+} 농도 증가에 따라 모두 증가되는 것으로 보아, 확실히 Ca^{2+} 이 신경말단에서 흥분전달물질의 유리를 촉진시킴으로써 접합부 전압이 커진 것으로 해석된다.

반대로 세포의 Ca^{2+} 을 없앤 Ca^{2+} -제거 Tyrode 용액으로 조직을 관류시킬 경우의 결과를 그림 9에 나타내었다. 즉 2 mM Ca^{2+} 을 지닌 정상 Tyrode 용액 중에서 규칙적인 서파를 자발적으로 발생시키는 유문등 조직을 Ca^{2+} -제거 Tyrode 용액으로 관류시키자 막전압이 감소되고 서파의 크기도 점차 감소되었으나, 정상 Tyrode 용액으로 갈아주면 빠른 속도로 서파가 회복되고 있음을 보여주고 있다. 그림하단에 대조시 (Ca^{2+} 2 mM), Ca^{2+} -제거 Tyrode 용액 Ca^{2+} 0 mM) 관류 15분후, 그리고 정상용액 교체 15분후에 기록된 IJP의 변화를 나타내었는데 Ca^{2+} -제거

(A) Control (Guanethidine, 5×10^{-6} M)



(B) Atropine, 10^{-6} M



(C) Atr. & TTX (3×10^{-7} M)

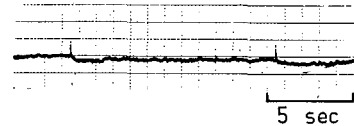


Fig. 10. Effects of atropine and TTX on junction potentials recorded from the fundus of guinea-pig stomach. In the presence of guanethidine (5×10^{-6} M), transmural nerve stimulation evoked EJP (A), and the EJP was blocked by atropine (B). Additional application of TTX into the atropine-containing solution inhibited the IJP (C).

Tyrode 용액 관류시에는 IJP가 사라지는 것으로 보아 정상적인 전달물질 유리과정에는 반드시 세포의 Ca^{2+} 이 필요함을 알 수 있다.

위저부에서 기록되는 EJP의 특성에 관한 실험결

과를 그림 10에 나타내었다. Guanethidine 존재하에서 기록되던 EJP(그림 10 A)가 atropine 추가투여시 IJP(그림 10 B)로 변하는 것으로 보아, 위저부에는 cholinergic EJP와 non-adrenergic, non-cholinergic IJP가 동시에 존재함을 알 수 있다. 여기에 다시 tetrodotoxin(TTX 3×10^{-7} M)을 투여하면 IJP(그림 10 C)도 사라지고 있다.

접합부 전압이 신경자극에 의하여 유리된 신경 흥분 전달물질(neurotransmitter)의 작용결과임을 다시 한번 보여주는 실험결과를 그림 11에 나타내었다. 즉 TTX 투여전후에 유문동에서 기록되는 IJP 변화양상을 보면, 대조시(TTX 투여전)의 IJP가 TTX 투여 10분후에는 완전히 없어지는 것으로 보아 기록된 IJP는 확실히 신경이 매개되어 나타나는 현상이라고 판단된다.

6. 유문동 서파에 대한 아데노신 효과

유문동에서 기록되는 자발적 서파에 대한 아데노신(5×10^{-5} M) 투여효과를 그림 12에 나타내었다. 아데노신 투여전 대조시와 투여후 15분에 나타난 서파의 변화양상을 살펴보면, 서파의 크기는 25.5에서

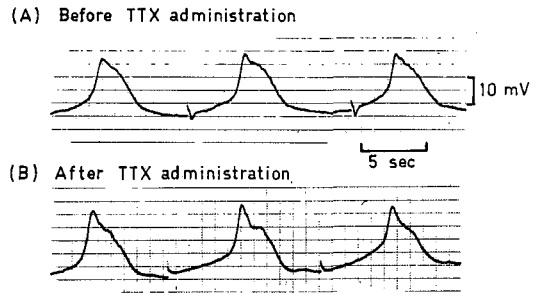
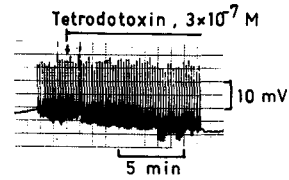


Fig. 11. Effects of TTX on the slow waves and injection potentials recorded from the antrum of guinea-pig stomach. Slow waves were not affected by TTX, while the IJP was not induced by transmural nerve stimulation in the presence of TTX.

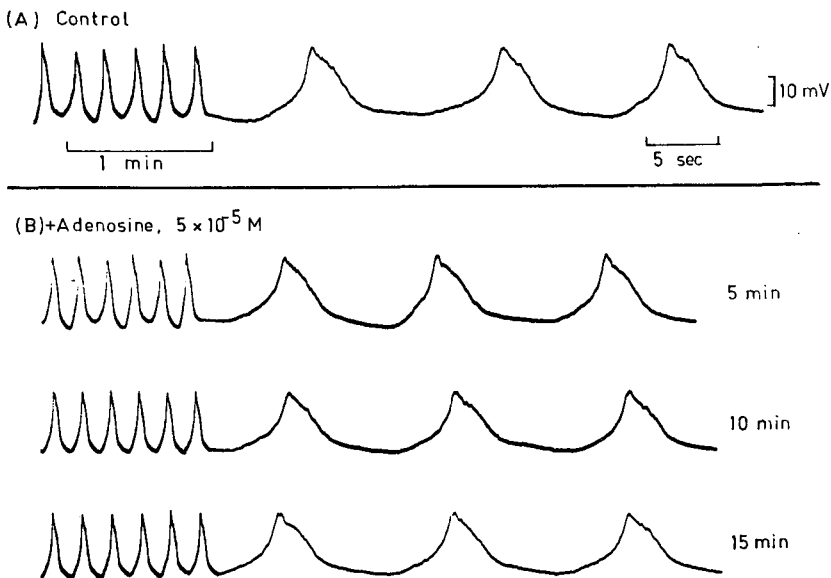


Fig. 12. Effects of adenosine on slow waves recorded from the antrum of guinea-pig stomach. Adenosine decreased the amplitude and maximum rate of rise of slow waves : comparing those obtained before and after adenosine addition, the slow wave amplitude from 25.5 to 22.0 mV, and the maximum rate of rise from 26 to 18 mV/sec.

22.0 mV로 감소되었고, 최대 탈분극 속도($\frac{dv}{dt}$) max는 26에서 18 mV/sec로 심한 감소를 보였다. 서파의 폭(기간)중에서 50%재분극 기간(slow wave duration, SD_{50})과 90%재분극 기간(slow wave duration, SD_{90})을 비교하여 보면 SD_{50} 은 2.7에서 2.8 sec로, SD_{90} 은 7.6에서 7.8 sec로 큰 변화는 볼 수 없었다. 즉 아데노신의 서파에 대한 뚜렷한 효과는 서파크기와 탈분극 속도의 감소로 요약될 수 있다.

세포의 Ca^{2+} 농도를 2 mM에서 8 mM로 높여 서파크기와 탈분극 속도를 증가시킨 상태에서 아데노신($5 \times 10^{-5} M$)의 서파에 대한 효과를 보다 뚜렷하게 볼 수 있도록 시도한 실험결과를 그림 13에 나타내 보였다. 서파특성중 서파크기(slow wave amplitude, SA), 최대 탈분극 속도($\frac{dv}{dt}$) max, SD_{50} 및 SD_{90} 을 Ca^{2+} 2 mM(그림 13 A), Ca^{2+} 8 mM(그림 13 B 및 Ca^{2+} 8 mM+adenosine(그림 13 C)에서 비교하여 보면,

SA(mV)는 16.0, 23.5 및 23.5이고

($\frac{dv}{dt}$)max(mV/sec)는 6.7, 50.0 및 30.0이며 SD_{50} (sec)은 3.1, 1.0 및 0.9 이고

SD_{90} (sec)은 7.0, 4.0 및 4.0 이었다.

서파에 대한 Ca^{2+} 의 뚜렷한 효과는 SA 및 ($\frac{dv}{dt}$) max의 증가와 SD_{50} 과 SD_{90} 의 감소로 요약될 수 있고, 고농도 Ca^{2+} 하에서 아데노신 효과는 ($\frac{dv}{dt}$) max의 뚜렷한 감소로 나타남을 알 수 있었다.

서파가 근원성으로 발생되고 TEA로 서파크기와 탈분극 속도를 증가시킨 상태에서 아데노신의 효과를 관찰한 결과를 그림 14에 나타내었다. (A)에 나타낸 것처럼 서파는 guanethidine($5 \times 10^{-6} M$), atropine($10^{-6} M$) 및 TTX($3 \times 10^{-7} M$) 존재시에도 계속 규칙적으로 발생하는 것으로 보아 근원성으로 생겨난다고 판단된다. 대조시와 아데노신 투여후 15분(그림 14 B)에 서파에 나타난 특징을 비교하여 보면, SA와 ($\frac{dv}{dt}$) max는 18.5에서 11.5 mV로, 12.5에서 5.2 mV/sec로 각각 심한 감소현상을 볼 수 있었으나 SD_{50} 과 SD_{90} 은 2.9에서 3.4 sec 및 6.2 sec로 큰

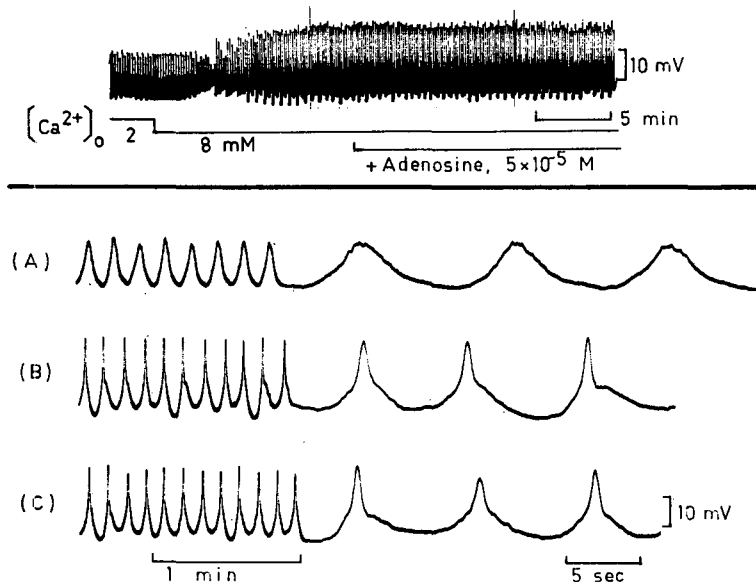


Fig. 13. Effects of adenosine on the slow waves in high Ca^{2+} solution recorded from the antrum of guinea-pig stomach. (A) Control slow wave tracing at Ca^{2+} 2 mM. (B) The slow wave tracing at high Ca^{2+} 8 mM. (C) The slow wave tracing in high Ca^{2+} solution containing adenosine. The amplitude and maximum rate of rise of slow waves were increased in high Ca^{2+} solution, and the increased rate of rise was decreased obviously by adenosine: the maximum rate of rise was changed from 6.7 at control to 50 in high Ca^{2+} , and 30 mV/sec in high Ca^{2+} + adenosine respectively.

(A) Control (GED , Atr. , TTX , & TEA)



(B) +Adenosine, 5×10^{-5} M

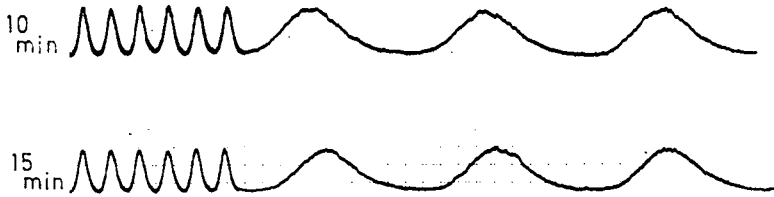


Fig. 14. Effects of adenosine on the slow waves in the presence of neurotransmission blockers, TTX and TEA recorded from the antrum of guinea-pig stomach. Slow waves were not influenced by the application of guanethidine (5×10^{-6} M), atropine (10^{-6} M), and TTX (3×10^{-7} M) (A). Adenosine decreased the potentiated amplitude and maximum rate of rise of slow waves in the presence of TEA (2 mM) (B) : the amplitude and rate of rise decreased from 18.5 to 11.5 mV, and from 12.5 to 5.2 mV/sec respectively.

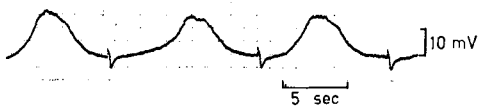
변화가 없었다.

7. 접합부 전압에 대한 아데노신 효과

신경말단에서 신경흥분 전달물질의 유리과정에 대한 아데노신의 작용양상을 규명하기 위하여, 접합부 전압에 대한 아데노신의 투여효과를 비교 관찰한 결과를 그림 15, 그림 16 및 그림 17에 나타내었다. 그림 15 B를 보면, 유문동에서 기록되는 IJP가 guanethidine(5×10^{-6} M) 및 atropine(10^{-6} M) 존재 시에도 그대로 나타나는 것으로 보아 non-adrenergic, non-cholinergic IJP라고 판단된다. 이러한 조건하에서 아데노신(10^{-5} M)을 투여한 결과, IJP크기는 대조시의 4.5에서 3.5 mV로 감소됨을 보여주고 있다 (그림 15 C).

이와 같은 아데노신의 IJP 억제현상을 보다 뚜렷하게 보기 위하여 세포의 Ca^{2+} 을 6 mM로 높인 상태에서 아데노신(10^{-5} M) 투여효과를 관찰한 결과를 나타내보인 것이 그림 16이다. 즉 대조시 IJP는 4.5 mV이고, Ca^{2+} 6 mM에서는 10 mV로 큰 증가를 보였으나 여기에 아데노신을 투여한 결과 6.5 mV로 뚜렷한 감소현상을 나타내었다. 이러한 실험결과는

(A) Control



(B) Guanethidine & Atropine



(C) GED , Atr. , & Adenosine(10^{-5} M)



Fig. 15. Effects of adenosine on the non-adrenergic, non-cholinergic IJP recorded from the antrum of guinea-pig stomach. The IJP recorded from the antrum was not blocked by adrenergic or cholinergic receptor antagonists, guanethidine (5×10^{-6} M) and atropine (10^{-6} M) (B). Non-adrenergic, non-cholinergic IJP was inhibited from 4.5 to 3.5 mV by adenosine (10^{-5} M).

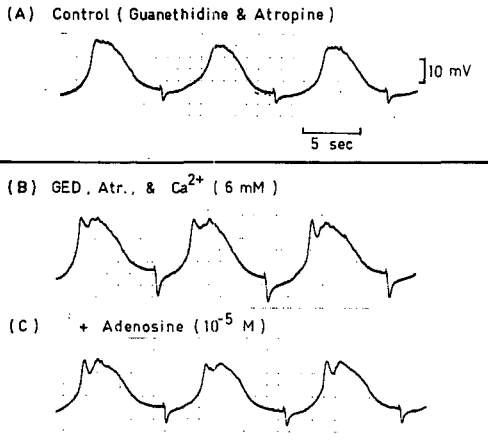


Fig. 16. Prominent inhibitory effects of adenosine on the non-adrenergic, non-cholinergic IJP in the antrum of guinea-pig stomach. The increased amplitude of IJP in high Ca^{2+} solution was inhibited prominently by adenosine : the amplitude of IJP in high Ca^{2+} was decreased from 10 to 6.5 mV by the adenosine application.

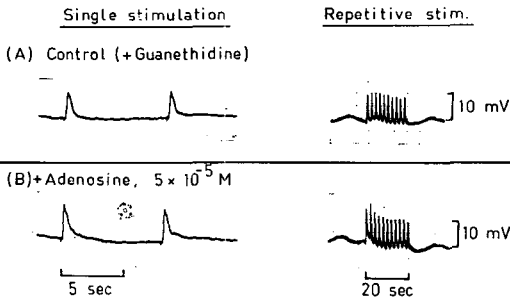


Fig. 17. Effects of adenosine on the EJP in the presence of guanethidine recorded from the fundus of guinea-pig stomach. The EJPs evoked by transmural single or repetitive stimulation were potentiated by adenosine : the amplitude of EJP induced by single stimulation increased from 10.5 to 13.5 mV by adenosine.

아데노신이 non-adrenergic, non-cholinergic nerve terminal에 작용하여 신경흥분 전달물질의 유리를 억제시키는 것으로 해석된다.

위저부에서 기록되는 EJP에 대한 아데노신(5×10

$^{-5} M$) 효과를 그림 17에 나타내었다. Guanethidine ($5 \times 10^{-6} M$) 존재시의 EJP는 10.5 mV이었으나, 여기에 아데노신 투여시 13.5 mV로 뚜렷한 증가를 보이고 있으며 반복자극에서도 증가현상을 볼 수 있다. 이러한 EJP 증가효과는 아데노신이 non-adrenergic, non-cholinergic nerve에 작용하여 IJP를 억제시킴으로써 EJP는 오히려 대조시 보다 강화되어 나타난 것으로 판단된다.

고 찰

기니피그 위에서 얻은 전기적 활동의 부위별 특징 중 위저부에서는 완전한 주기적 탈분극현상인 서파가 발생되지 않거나 있더라도 그 크기가 작았고(3~5 mV), 이에 비하여 유문동 부위에서는 상당한 크기의 서파가 규칙적으로 기록되었다(그림 2). 유문동 부위의 운상근 세포에서 기록된 서파의 특성을 살펴보면 크기가 15~30 mV(평균 20 mV 정도)이고, 폭은 2~10 sec로서 결장뉴의 서파보다 짧았다. 서파의 발생빈도는 35°C에서 6/min 정도로서 Komori & Suzuki(1986)의 보고와 대동소이하다. 최대 탈분극 속도, $\left(\frac{dv}{dt}\right)_{max}$ 는 10~40 mV/sec 정도였는데(그림 12, 그림 13, 및 그림 14), 다른 동물의 위에서 기록된 결과를 살펴보면 고양이에서는 8 mV/sec(Papasova et al., 1968), 개에서는 0.5~2 V/sec, 사람에서는 0.1~0.6 V/sec이었다(EL-Sharkawy et al., 1978). 서파가 신경과는 무관한 근원성으로 발생된다는 사실은 본 실험에서도(그림 14) 확인되었다. 서파와 수축을 동시에 기록한(그림 3) 것을 보면, 유문동 부위에서 발생하는 규칙적 서파는 자발적 수축과 흥분-수축 연결이 잘 되고 있음을 보여주었다. 가시전압이 발생되지 않더라도 작은 크기의 수축이지만 서파에 의하여 유발됨을 알 수 있었다. 소화관에서 눈에 떨 정도의 수축은 일반적으로 가시전압이 발생될 때 생기겠지만, 서파만으로도 크기는 작지만 자발적 수축이 유발된다는 보고는 많다. 즉 개의 회장(Sanders, 1983), 개의 유문동 종주근 및 운상근(Szurszewski, 1975; EL-Sharkawy et al., 1978; EL-Sharkawy & Szurszewski, 1978)에서 기록하여 보고하고 있다.

서파가 자발적 수축을 유발시킨다는 소위 서파유

발수축은 활동전압 유발수축에 상대되는 개념으로서 그 생리학적 의의는 불확실하겠지만 Ca^{2+} -가시전압 (Ca spike)과 관련되어 있지 아니한 Ca^{2+} -channels 이나 Ca^{2+} 유리기전 (Ca^{2+} -release mechanisms)이 있을 것이라는 추측을 가능케 한다. 이와 관련된 재미있는 실험보고로서 고양이 소장 중주근에서 Mangel et al., (1982)은 세포내 Ca^{2+} 농도가 서파와 연관되어 규칙적으로 동요된다는 사실을 보고하였다.

서파를 자세하게 여러 조건하에서 분석하면 3가지 성분으로 구성되어 있다고 보고하였다 (Tomita, 1981). 즉 기니피그 윤상근에서 기록된 서파는 본 실험에서와 같이 제1성분, 제2성분 및 가시전압성분 (first component, second component & spike component)으로 구성되어 있는데, 제1성분은 서파의 밑부분을 구성하고 전압 비의존성 과정 (potential-independent process)으로 생겨나서 서파빈도를 좌우하고 있다. 이 제1성분은 아마도 전압형성 Na-Ca 교환기전 (electrogenic Na-Ca exchange mechanism)에 의한 것으로 추측되는데, 이 기전은 전압 비의존성 과정으로 생각되고 있다. 이에 대하여 제2성분은 제1성분에 의하여 유발되는 전압 의존성 성분으로서 제1성분의 탈분극으로 시발되는 Ca^{2+} -channel이 활성화되어 생기는 것으로 보고 있다. 제2성분 꼭대기에 생기는 가시전압 성분은 Ca spike action potential을 유발시키는 전압 의존성 Ca^{2+} -channel이 활성화되어 생기는 바 Ca^{2+} -길항제의 영향은 Ca^{2+} spike에 가장 강력하다.

아데노신은 유동문 조직절편의 자발적 수축을 10^{-6} M부터 농도에 따라 단계적으로 감소시켰으나 수축빈도에는 별반 영향을 미치지 못하였으며 (그림 4), 이러한 아데노신의 자발적 수축 억제작용은 dipyridamole 존재시에도 계속 발생되었다 (그림 6). 이러한 실험결과들은 아데노신 작용부위가 평활근 세포속이 아닌 세포막에 있는 것으로 판단되고 있다. 아데노신의 서파에 대한 뚜렷한 효과는 서파의 크기와 탈분극 속도의 감소로 요약될 수 있으며 (그림 12, 그림 13 및 그림 14) 서파의 발생빈도에는 역시 변화가 없었다. 이와같은 결과는 아데노신이 서파의 제1성분에는 영향을 주지않고 제2성분과의 관련된 전압 의존성 Ca^{2+} -channel에 영향을 주지않고 제2성분

과의 관련된 전압 의존성 Ca^{2+} -channel에 영향을 주어 Ca^{2+} 유입을 감소시켰으므로 자발적 수축의 크기가 작아진 것으로 해석된다.

전기적으로 활동이 미약하거나 조용하여 자발적 수축이 거의 나타나지 않는 위저부 조직절편에 전기 자극으로 위상성 수축을 유발시킬 수 있는데, 전기 자극조건을 짧은 폭 (1 ms)의 구형파를 이용하면 조직내의 신경만을 자극시킬 수 있다. 그림 7의 결과를 보면 TTX (3×10^{-7} M) 투여즉시 전기자극으로 유발시켰던 위상성 수축이 곧 사라지는 것으로 보아 신경흥분으로 유발된 수축임을 알 수 있었다. Guanethidine (5×10^{-6} M) 존재하에서 아데노신 (10^{-5} M)은 수축의 크기를 증가시키고 있으며, 이러한 작용은 aminophylline (10^{-5} M)과 길항적 현상을 보였다. 이러한 결과들은 아데노신의 작용부위가, 유문동의 자발적 수축억제시와는 달리, 위저부에서는 신경말단에도 작용할 것이라는 추측을 가능케 하였다.

접합부 전압은 조직내 신경을 자극하여 신경흥분 전달물질이 유리될때 기록되는 전압으로서 포유류 위장관 평활근에서는 3종류가 유발된다. 즉 cholinergic excitatory, adrenergic inhibitory 및 non-adrenergic non-cholinergic junction potentials 들이다 (Burnstock, 1981). 기니피그 위 평활근에도 교감신경 자극시 adrenergic IJP 미주신경 자극시 cholinergic EJP, 그리고 조직절편을 전장자극시 non-adrenergic, non-cholinergic IJP가 발생된다 (Komori & Suzuki, 1986). 그림 2B에서 본 접합부 전압을 보면 guanethidine (5×10^{-6} M) 존재하에서 전장자극으로 위저부에서는 흥분성 접합부 전압이, 그리고 유문동 부위에서는 억제성 접합부 전압이 기록되었는데 이와 같이 접합부 전압의 부위별 차이는 acetylcholine 수용체 (ACh 수용체)에 대한 감도 (sensitivity)가 부위별로 차이가 있는데 기인된다고 보고하고 있다 (Komori & Suzuki, 1986). 즉 고감도인 위저부에서는 cholinergic EJP를, 낮은 ACh 수용체 감도를 지닌 유문동에서는 non-adrenergic, non-cholinergic IJP가 기록된다고 보고하였다. 본 실험의 결과들 (그림 8, 그림 9 및 그림 10)을 보면 마찬가지로 현상을 확인할 수 있었고, 이들 접합부의 전압이 세포의 Ca^{2+} 을 높일 경우 크기가 증가되는 것

으로 보아 신경흥분전달물질의 유리가 촉진된 결과로 해석되었다. 세포의 Ca^{2+} 을 없애거나(그림 9), TTX 투여시(그림 11) 이들 접합부전압은 유발되지 않았다. 위저부에서는 guanethidine 존재하에서 보이던 cholinergic EJP가 atropine (10^{-6} M) 추가투여시 IJP로 변화되는 것으로 보아 이 부위에도 유문동에서와 같이 non-adrenergic, non-cholinergic IJP가 발생되는 것을 알 수 있다(그림 10).

유문동에서 기록되는 non-adrenergic, non-cholinergic IJP의 크기가 아데노신 (10^{-5} M) 투여로 감소되고(그림 15), 이러한 억제작용은 특히 높은 농도의 Ca^{2+} 존재하에서 더욱 뚜렷한 점(그림 16)으로 보아, 아데노신이 이 신경말단에 작용하여 신경흥분전달물질의 유리를 억제시키고, 이러한 억제 기전은 신경말단에서 Ca^{2+} 유입을 감소시키는 작용을 함으로써 유리억제현상이 나타난 것으로 판단된다. 위저부에서 guanethidine (5×10^{-6} M) 존재하에서 기록되는 EJP 크기가 아데노신에 의하여 뚜렷하게 증가된 결과(그림 17)는, 아데노신이 위저부에도 존재하는 non-adrenergic, non-cholinergic nerve terminal에 작용하여 IJP를 억제시킴으로써 EJP는 오히려 대조시보다 강화된 것으로 판단되었다.

결 론

내인성 물질인 아데노신의 위운동에 대한 효과와 그 작용기전을 밝히기 위하여, 여러가지 조건하에서 기니피그 위의 기계적 수축과 전기적 활동에 대한 아데노신의 투여효과를 비교분석하였다.

연구에 사용된 위조직은 운동성이 좋은 유문동과, 서파와 수축이 잘 보이지 않는 위저부를 택하였고, 전기적 활동은 평활근 세포내에 꽂은 유리미세전극으로 기록하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1) 위저부와 유문동 부위의 기계적 및 전기적 활동면의 차이는, 유문동에서는 규칙적 서파에 따라 자발적 수축이 발생되는데 반하여 위저부에서는 서파가 거의 없거나 있더라도 크기가 매우 작았고 자발적 수축 또한 미미하였다.

2) 전기자극으로 인한 신경흥분에 따라 평활근 세포에서 기록되는 접합부 전압도 부위별로 차이점을 보였다. 즉 위저부에서는 cholinergic EJP와

non-adrenergic, non-cholinergic IJP가 발생되는데 대하여 유문동에서는 non-adrenergic, non-cholinergic IJP가 기록되었다.

3) 자발적 수축에 대한 아데노신의 억제작용은 근원성인 서파에 미치는 아데노신의 효과에서 연유된 것으로 해석된다. 즉 서파의 크기가 감소되고 최대 탈분극 속도가 감소되는 현상과 수축크기 억제효과가 관련되어 있었다.

4) 유문동에서 기록되는 non-adrenergic, non-cholinergic IJP에 대하여 아데노신은 억제효과를 보였다.

5) 신경자극으로 유발시킨 위저부의 위상성 수축에 대한 아데노신의 촉진작용은 위저부의 EJP가 아데노신에 의하여 강화되는 것으로 설명될 수 있었다.

이상의 실험결과로 보아 아데노신은

1) 위 평활근 세포막에 작용하여 서파의 크기와 탈분극 속도를 감소시킴으로써 자발적 수축력을 약화시키고,

2) 또한 조직내 신경말단중 특히 non-adrenergic, non-cholinergic nerve terminal에 작용하여 신경흥분전달물질의 유리를 억제시키는 것으로 추정되었다.

REFERENCES

- Berne RM (1983). Cardiac nucleotides in hypoxia: Possible role in regulation of coronary flow. *Am J Physiol* 204, 317-322
- Burnstock G, Campbell G, Bennett M & Holman ME (1963). Inhibition of the smooth muscle of the taenia coli. *Nature (London)* 200, 581-582
- Burnstock G (1971). Neural nomenclature. *Nature (London)* 229, 282-283
- Burnstock G & Costa M (1973). Inhibitory innervation of the gut. *Gastroenterology* 64, 141-144
- Burnstock G (1980). Purinergic receptors in the heart. *Circ Res (Suppl. 1)* 46, 175-182
- Burnstock G (1981). Neurotransmitters and trophic factors in the autonomic nervous system (review lecture). *J Physiol* 313, 1-35
- Burnstock G (1986). The changing face of autonomic neurotransmission. *Acta Physiol Scand* 126, 67-91
- Drury AN & Szent-Grörgyi A (1929). The physiological activity of adenine compounds with especial refer-

- ence to their action upon the mammalian heart. *J Physiol* 68, 213-237
- Drummond GI & Severson DL (1979). Cyclic nucleotides and cardiac function. *Circ Res* 44, 145-153
- El-Sharkawy TY, Morgan KG & Szurszewski JH (1978). Intracellular electrical activity of canine and human gastric smooth muscle. *J Physiol* 279, 291-307
- El-Sharkawy TY & Szurszewski JH (1978). Modulation of canine antral circular smooth muscle by acetylcholine, noradrenaline, and pentagastrin. *J Physiol* 279, 309-320
- Fredholm BB, Gustafsson LE, Hedqvist P & Sollevi A (1983). Adenosine in the regulation of neurotransmitter release in the peripheral nervous system. In: Berne et al. (ed) *Regulatory Function of Adenosine*. Martinus Nijhoff, The Hague, p 479-495
- Gustafsson L, Hedqvist P, Fredholm BB & Lundgren G (1978). Inhibition of acetylcholine release in guinea pig ileum by adenosine. *Acta Physiol Scand* 104, 467-478
- Harder DR, Belardinelli L, Sperelakis N, Rubio R & Berne RM (1979). Differential effects of adenosine an nitroglycerin on the action potentials of large and small coronary arteries. *Circ Res* 44, 176-182
- Hedqvist P & Fredholm BB (1979). Inhibitory effect of adenosine on adrenergic neuroeffector transmission in the rabbit heart. *Acta Physiol Scand* 105, 120-122
- Hedqvist P, Fredholm BB & Olundh S (1976). Adenosine as modulator of adrenergic neurotransmission in the rabbit kidney. *Acta Physiol Scand Suppl* 440, 163-171
- Hedqvist P, Fredholm BB & Olundh S (1978). Antagonistic effects of theophylline and adenosine on adrenergic neuroeffector transmission in the rabbit kidney. *Circ Res* 43(4), 592-597
- Kim KW & Ho WK (1984). Effects of adenosine on the action potentials of rabbit SA nodal cells. *Kor J Physiol* 18, 19-35 (in Korean)
- Komori K & Suzuki H (1986). Distribution and properties of excitatory and inhibitory junction potentials in circular muscle of the guinea-pig stomach. *J Physiol* 370, 339-355
- Mangel AW, Connor JA & Prosser CL (1982). Effects of alterations in calcium levels on cat small intestine slow waves. *Am J Physiol* 243 (Cell Physiol. 12), C7-C13
- Papasova MP, Nagai T & Prosser CL (1968). Two component slow waves in smooth muscle of cat stomach. *Am J Physiol* 214, 695-702
- Sanders KM (1983). Excitation-contraction coupling without Ca^{2+} action potentials in small intestine. *Am J Physiol* 244 (Cell Physiol. 13), C356-C361
- Schrader J, Rubio R & Berne RM (1975). Inhibition of slow action potentials of guinea pig atrial muscle by adenosine: A possible effect on Ca^{2+} -influx. *J Mol Cell Cardiol* 7, 427-433
- Szurszewski JH (1975). Mechanism of action of pentagastrin and acetylcholine on the longitudinal muscle of the canine antrum. *J Physiol* 252, 335-361
- Tomita T (1981). Electrical activity (spikes and slow waves) in gastrointestinal smooth muscles. In: Bülbiring E, Brading AF, Jones AW & Tomita T. (ed) *Smooth Muscle-an assessment of current knowledge*. Edward Arnold, London, p 127-156
- Verhaeghe RH, Lerez RR, McGrath MA, Shepherd JT & Vanhoutte PM (1978). Metabolic modulation of neurotransmitter release-adenosine, adenine nucleotides, potassium, hyperosmolarity and hydrogen ion. *Fed Proc* 37, 208-211
- Verhaeghe RH, Vanhoutte PM & Shepherd JT (1977). Inhibition of sympathetic neurotransmission in canine blood vessels by adenosine and adenine nucleotides. *Circ Res* 40, 208-215