

돼지 분만 시기의 조절에 관하여
I. 자궁 평활근의 운동성에 대한 부교감 신경과
Cholinergic Agonist의 영향

박상은 · 황보원 · 변유성 · 조광제
경상남도 가축위생시험소 중부지소

Control of Parturition Time on Pig
I. Effect of Parasympathetic Nerve and Cholinergic
Agonist on Uterine Smooth Muscle Motility

Sang-Eun Park, Bo-Won Hwang, Yu-Seong Byun, Kwang-Je Cho
Central Branch of Kyöngnam Veterinary Service Laboratory

Abstract

To elucidate the action of the cholinergic nerve on the isolated uterine smooth muscle of the pig, effects of electrical transmural nerve stimulation and acetylcholine were investigated on the pretreatment of the physostigmine; cholinestrase inhibitor and atropine; cholinergic receptor blocker from physiograph.

1. The contractile response induced by acetylcholine was responded in the concentration of 10^{-8} M at first and the maximum contractility was concentration of 10^{-6} M.
2. The contractile response induced by electrical transmural nerve stimulation(20 V, 0.5 Msec, 20 sec) was the frequency(2-64 Hz)-dependent manner.
3. The contractile response induced by acetylcholine was completely blocked by the pretreatment with cholinergic receptor blocker, atropine and was increased by the pretreatment of cholinestrase inhibitor, physostigmine.
4. The contractile response induced by electrical transmural nerve stimulation was completely blocked by the pretreatment with cholinergic receptor blocker, atropine, and was increased by the pretreatment of cholinestrase inhibitor, physostigmine.

These findings suggest that it was powerful excitatory action by cholinergic nerve on uterine smooth muscle of the pig.

Key words : Uterine smooth muscle, Parasympathetic nerve, Cholinergic agonist

I. 서 론

암돼지의 생식기는 한쌍의 난소, 난관, 자궁각과 한개의 자궁체, 자궁경관, 질, 외음부 및 부속생식선으로 구성되어 있다. 돼지의 자궁은 자궁체에 1cm 정도의 짧은 중격을 형성하며 대부분이 복강내에 위치한다. 자궁각은 多胎性動物의 특징으로써 심하게 길며 자궁경도 길다. 임신자궁각의 길이는 1.2~1.5m 정도이며 외관은 마치 小腸과 같아서 복잡하게 얽혀있다.

자궁체의 길이는 약 5cm 정도에 불과하며 자궁경의 길이는 10~20cm로써 다른 가축에 비해서 길다. 경관점막에는 특유하게 橫走하는 주름이 서로 교합 발달되어 있어 경관이 좌우로 나선상을 이루면서 굴곡된다. 돼지의 자궁경 후단에는 자궁질부의 형성이 인정되지 않으며, 단순히 자궁경관에서 형성된 점막의 주름이 臍쪽으로 진행하며 점차적으로 알아지면서 뚜렷한 경계없이 질점막으로 이행되고 있다. 따라서 외자궁구를 정확하게 결정하기가 곤란하다.

돼지 자궁은 일반 유강장기와 같이 평활근으로 이루어져 있으며, 다른 부위의 평활근과 같이 자율신경계의 지배를 받고 있다. 그들의 기능은 교감신경과 부교감신경의 길항작용에 의해 조절되어지는 것으로 알려져 있다. 장기에 따라서 교감신경과 부교감신경의 길항작용을 증명할 수 있는 명확하고 일관성 있는 실험실적 근거는 매우 빈약한 실정이기에 그 생리적 의의가 명확히 밝혀져 있지 않은 실정이다.

일반적으로 자율신경계의 생식기에 대한 생리적 기능은 부교감신경의 절후신경섬유인 cholinergic 신경섬유는 촉진적 반응을 나타내고, 교감신경의 절후신경섬유인 adrenergic 신경섬유는 촉진적 반응과 억제적 반응을 공히 가지고 있음이 알려져 있다.^{1~3)}

부교감신경의 촉진적 반응에 대해서는 acetylcholine이 potential sensitive ion channel에 작용하여 활동전위를 발생시키는 것으로 알려져 있다. 이들 cholinergic receptor의 생리적 의의를 추구하기 위한 연구들이 recetor에 선택적으로 작용하는 agonist, antagonist들의 작용만으로서 여러 동물에서 추구되어 왔다.^{4~6)}

따라서 본 저자는 돼지 자궁 평활근 절편에 대한 전기자극을 통하여 평활근에 분포하고 있는 신경의 흥분작용을 이용하여 endogeneous 신경 전달물질의 유리를 통하여 자율신경계의 생리적 의의를 보다 명확히 규명함으로써 분만시기에 있어서 자궁 평활근의 운동성을 증진시킴으로써 원만한 분만을 야기시킬 수 있을 뿐만 아니라 적기에 강한 수축력을 인위적으로 일으킬 수 있도록 하여 돼지 분만 유도에 적용코저 본 실험을 시도하였다.

II. 재료 및 방법

○ 실험동물

임상적으로 건강하다고 인정되는 Landrace종 암돼지 50두(체중 80±5kg)를 공시하였다.

○ 자궁평활근 절편의 제작

실험동물을 타격에 의해 실신시킨 후 즉시 복강을 절개 자궁을 적출하여 95% O₂와 5% CO₂의 혼합 가스가 공급되는 4℃의 냉한 정상 생리적 영양액에서 길이 1.5cm, 폭 0.5cm 되게 자궁 평활근 절편을 제작하였다.

○ 영양액의 조성

정상생리적 영양액은 NaCl, 136;KCl, 2.7; CaCl₂, 1.8;MgCl₂, 1.0;glucose, 5.5;Tris-HCl, 24.0mM로 하여 37℃에서 pH 7.4가 되도록 조성

하여 사용하였다.

○운동성의 기록

제작한 자궁 평활근 절편을 20ml용 organ bath 에 옮겨서 한쪽 끝은 organ bath 밑바닥에 고정 시키고 다른 쪽 끝은 상하 높이를 조절할 수 있도록 준비된 근수축변환기(isometric force transducer, FTO3, Grass)에 연결하며 Protentometric recoder(PR200, Bioscience)를 통하여 자궁 평활근의 등장성수축(isometric contraction)을 기록하였다.

○전기자극방법

전기자극은 transmural nerve stimulation으로서 자궁 평활근 절편의 양쪽 5mm지점에 백금 전극을 설치하여 stimulator(SM-1, Narco Biosystem)를 이용하여 0.5 msec에서 20초 동안 전기자극을 실시하여 최적 전기자극치(20V, 10Hz, 0.5msec에서, 20sec)를 찾아서 실험을 실시하였다. 전기자극에 대한 반응은 1 μ m tetrodotoxin을 전처리하여 전기자극에 대한 반응이 완전히 차단되어지는 것을 확인하였다. 전기자극의 간격은 5~10분으로 하였다.

○약물처리방법과 사용된 약물

약물처리는 20ml organ bath에 200 μ l 이하의 약물을 처리하여 100배 이상 희석되도록 하였으며, 약물처리 후 정상 생리적 영양액으로 3회 이상 세척하여 1시간 이상 평형시킨 후 다음 실험을 실시하였다. 본 실험에 사용된 약물은 acetylcholine, atropine, physostigmine, tetrodotoxin으로 sigma제품을 사용하였다. 그외 모든 시약은 특급시약을 사용하였다.

Ⅲ. 결 과

1. Acetylcholine(Ach) 농도변화에 따른 자궁 평활근의 운동성

Ach 10⁻⁸M에서 수축을 나타내기 시작하여 농도변화에 따라 수축정도가 증가하여 10⁻⁶M에서 최대 수축을 보였으며, Ach의 ED₅₀은 7 \times 10⁻⁷M 이었다.

acetylcholine에 의해 나타난 수축현상은 정상 생리적 영양액으로 3회 이상 세척하면 본래의 기초장력으로 되돌아가는 가역적반응을 보였다. (Fig 1)

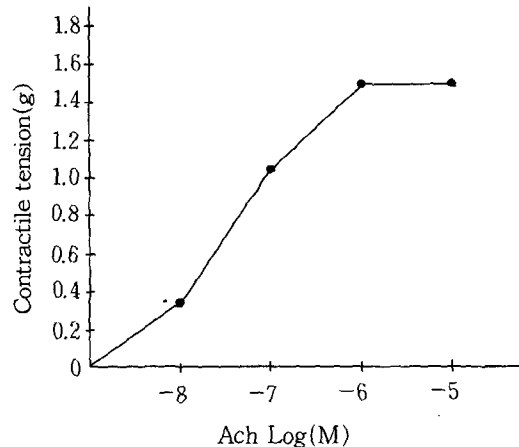


Fig 1. Effect of acetylcholine on contractile activity in uterine smooth muscle of pig.

2. 돼지 자궁 평활근에 대한 electrical transmural nerve stimulation의 효과

electrical transmural nerve stimulation은 20V, 0.5msec에서 frequency 2-64Hz까지 20초 동안 전기 자극을 실시하여 그에 따른 반응을 관찰하였다. 전기 자극에 대한 반응은 급속한 단일 수축을 나타내었고, frequency 16Hz에서 최대수축을 나타내었다. 그래서 최적 전기자극치를 20V,

10Hz, 0.5msec로 삼았다.(Fig 2)

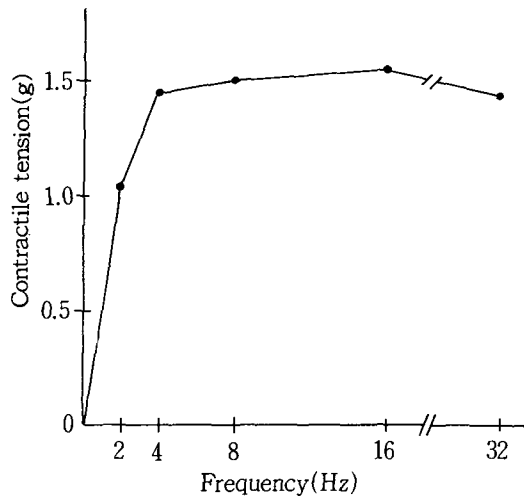


Fig 2. Frequency-responses for electrical transmural nerve stimulation(20V, 20sec, 0.5msec, 2-64Hz) on the uterine smooth muscle of pig.

3. Ach의 수축현상에 대한 atropine의 영향

Ach에 의한 수축현상이 cholinergic receptor와는 어떤 관계가 있는지를 cholinergic receptor 차단제인 atropine을 이용하여 관찰하였다. Ach(10^{-6} M)에 의한 단일 수축현상이 atropine(10^{-6} M)에 의해 거의 완전히 차단되었다.(Fig 3)

4. Atropine이 전기자극에 의한 자궁 평활근의 수축현상에 미치는 영향

돼지 자궁 평활근의 전기자극(20V, 10Hz, 0.5msec)에 의한 수축현상이 cholinergic receptor와는 어떤 관계가 있는지를 cholinergic receptor 차단제를 이용하여 관찰하였다. cholinergic receptor 차단제인 atropine(10^{-6} M) 전처리로서 전기자극에 의한 단일 수축현상이 완전히 억제되었다.(Fig 4)

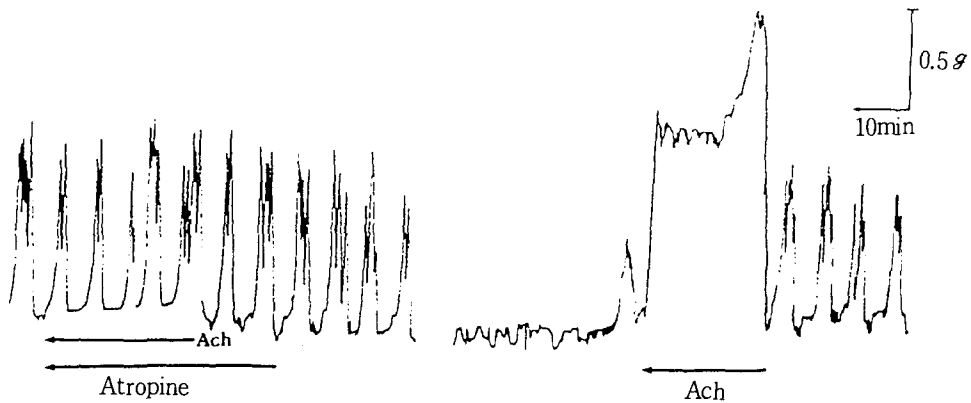


Fig 3. Effect of cholinergic receptor blocker, atropine(10^{-6} M) on contractile response induced by acetylcholine(10^{-6} M) on the uterine smooth muscle of pig.

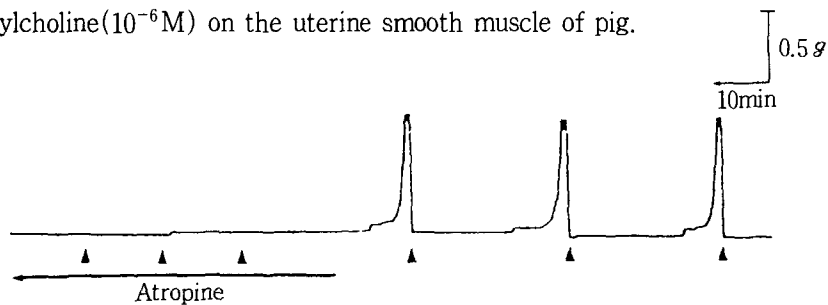


Fig 4. Effect of cholinergic receptor blocker, atropine(10^{-6} M) on the neurogenic contraction by the electrical transmural nerve stimulation(20V, 10Hz, 0.5msec, 20sec) on the uterine smooth muscle of pig.

5. Ach의 수축현상에 대한 physostigmine의 영향

Ach에 의한 수축현상이 cholinesterase inhibitor인 physostigmine에 의해 어떤 영향을 받는지를 관찰하였다. Ach에 의한 수축현상이 physostigmine(10^{-6} M) 전처리에 의해 수축력이 증가되어지는 현상을 나타내었다.(Fig 5)

돼지 자궁 평활근의 전기자극(20V, 10Hz, 0.5 msec)에 의한 수축현상이 cholinergic 신경으로부터 Ach의 유리에 의해 생긴다면 cholinesterase의 작용을 억제시켰을 경우 전기자극이 어떤 영향을 받는지를 cholinesterase inhibitor를 이용하여 관찰하였다. Cholinesterase inhibitor인 physostigmine(10^{-6} M) 전처리로서 전기자극에 의한 단일 수축현상이 증가하는 경향을 보였다.(Fig 6)

6. Physostigmine이 전기자극에 의한 자궁 평활근의 수축현상에 미치는 영향

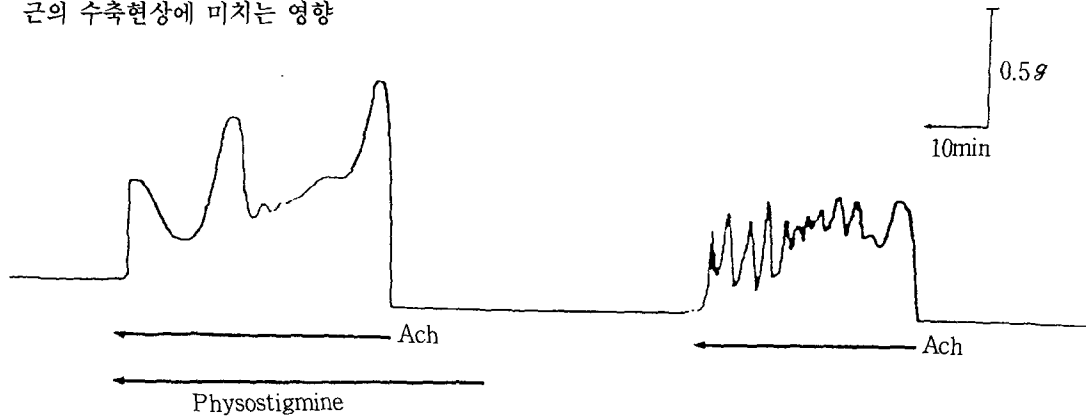


Fig 5. Effect of physostigmine(10^{-6} M) on the contractile response by the acetylcholine(10^{-6} M) on the uterine smooth muscle of pig.

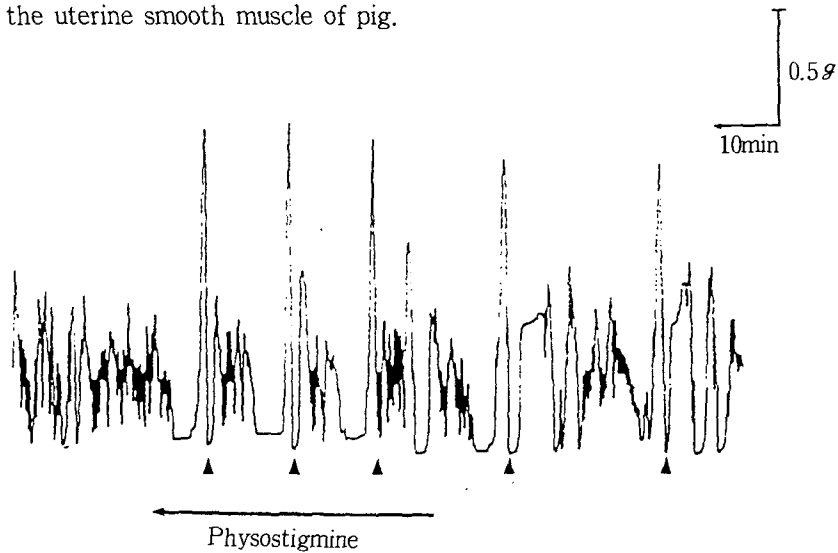


Fig 6. Effect of cholinesterase inhibitor, physostigmine(10^{-6} M) on the neurogenic contraction by the electrical transmural nerve stimulation(20V, 10Hz, 0.5msec, 20sec) on the uterine smooth muscle of pig.

IV. 고 찰

자율신경계의 생리현상을 규명하기 위하여 자율신경계 수용체에 선택적으로 작용하는 agonist와 antagonist를 이용하여 여러 동물에서 실험되어 왔다.^{3,8-12)} 평활근의 운동은 전기적 변화인 이온의 이동²⁾ 및 대사물질의 변화^{10,11)} 등의 요인에 의해서 이루어지고 있음이 알려져 있다.

본 실험에서 돼지 자궁 평활근은 acetylcholine에 의해 수축현상을 나타내었으며, cholinergic receptor 차단제인 atropine에 의하여 acetylcholine에 대한 수축효과가 완전히 차단되는 것을 관찰할 수 있었기에 돼지 자궁 평활근에는 부교감신경 지배하의 촉진적 반응이 있으며, cholinergic receptor의 존재를 확인할 수 있었다. 부교감신경계 작용 약물중 muscarinic agonist에 의해 기니픽의 회장, 폐장^{5,15)}에서도 cGMP농도 증가와 아울러 수축현상을 나타내며, atropine의 전처리로서 수축현상이 완전히 차단된다고 보고한 것과 유사한 결과로 나타났다.

특히 활동전압을 쉽게 발생하는 평활근에서는 전기적 변화에 의해 유발되는 활동전압을 조정하는 것이 평활근 긴장을 변화시키는 가장 중요한 기전은 여러 원인에 의해 세포막의 탈분극 때문인 것으로 믿어지고 있다.³⁻¹³⁾ 본 연구에서는 평활근 자체에 존재하는 신경의 전기적 자극을 통해 절후섬유의 흥분으로 신경말단에서 신경전달 물질을 분비하게 하여 관찰하였다.

본 실험에서 이용된 전기자극이 분명히 선택적으로 평활근에 존재하는 신경인 것은 김¹⁴⁾의 연구에서와 같이 neural blocker인 tetrodotoxin (10^{-6} M)의 처리에 의한 단일 수축현상이 완전히 차단되어지는 것으로 보아 분명히 transmural nerve stimulation에 의한 전기자극이 신경자극에 의한 흥분효과임을 확인할 수 있었다.

이와같은 전기자극은 자율신경계 adrenergic, cholinergic 신경섬유 모두가 자극을 받아서 생기는 현상일 것이다.

cholinergic 신경의 전기자극으로 신경말단에서 Ach의 유리에 의해 생긴 수축효과를 cholinestrase inhibitor인 physostigmine의 전처리로서 전기자극에 의한 단일 수축현상이 차단되어진 것을 관찰함으로써 전기자극에 의한 단일 수축현상이 cholinergic 신경섬유의 흥분으로 신경말단에서 Ach의 유리에 의한 효과임이 분명한 것으로 생각되어진다. 그리고 기니픽의 폐장¹⁵⁾과 가토의 회장¹⁶⁾ 평활근에서 cholinergic receptor blocker인 전처리에 의해 Ach의 작용이 완전히 차단되어지는 것으로 보아 평활근에 강력한 cholinergic 수용체의 촉진적 반응이 존재함을 밝힌 것과 유사한 결과인 것이다.

aAtropine의 전처리에 의해서 전기자극의 단일 수축현상이 거의 완전히 차단되어지는 것으로 보아 자궁 평활근의 cholinergic 신경의 작용이 보다 강력하게 나타나는 것으로 생각되어진다.

이상의 결과들로 돼지 자궁 평활근에서 수축현상의 촉진적 효과를 cholinergic 신경섬유가 강력히 나타내고 있는 것으로 사료되어진다.

V. 결 론

돼지 적출 자궁평활근에서 transmural nerve stimulation과 cholinergic agonist와 antagonist에 대한 영향을 관찰하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 돼지 자궁 평활근에 대한 수축은 Acetylcholine 10^{-8} M 농도에서 수축을 시작하여 10^{-6} M에서 최대 수축을 나타내었다.
2. 돼지 자궁 평활근에 대한 전기자극(20V, 0.5 msec, 20sec)은 frequency dependent(2-

- 64Hz)한 단일 수축현상을 나타내었다.
3. Acetylcholine(10^{-7} M)은 cholinergic receptor 차단제인 atropine(10^{-6} M)에 의해 수축이 완전히 차단되었고, cholinestrase inhibitor인 physostigmine(10^{-6} M) 전처리로 수축현상이 증가되었다.
4. 돼지 자궁 평활근에 대한 전기자극(20V, 10Hz, 0.5mese, 20sec)은 cholinergic receptor 차단제인 atropine(10^{-6} M) 전처리에 의해 수축이 완전히 차단되었고, cholinestrase inhibitor인 physostigmine(10^{-6} M) 전처리로 수축현상이 증가되었다.
- 이상의 결과에서는 돼지 자궁 평활근에는 cholinergic 신경섬유가 수축현상을 촉진하는 것으로 사료되어진다.

참 고 문 헌

1. Labate JS. 1941. Influence of cocaine on the uterine reactions induced by adrenaline and hypogastric nerve stimulation. *J Pharmacol Exp Ther.* 72:370~382.
2. Marshall JM. 1973. Effects of catecholamines on the smooth muscle of the female reproductive tract. *Ann Rev Pharmacol.* 13:19~24.
3. Goodman LS, Gillman A. 1980. *The pharmacological basis of therapeutics.* 6th ed. New York, MacMillan Pub. 67~74.
4. Bolton TB. 1972. The depolarizing action of acetylcholine or catecholamine in intestinal smooth muscle. *J Physiol.* 220:647~654.
5. Bolton TB. 1973. The permeability change produced by acetylcholine in smooth muscle. In *Drug Receptor.* London, MacMillan. 87~102.
6. Joiner PD. 1973. Studies on the loss of acetylcholine sensitivity in ileal muscle. *J Pharmacol Exp Ther.* 186:552~559.
7. Ahlquist RP. 1948. A study of the adrenotropic receptor. *Am J Physiol.* 153:586~600.
8. Coleman AJ, Paterson DS, Smoerville AR. 1979. The beta adrenergic receptor of rat corpus luteum membrane. *Biochem Pharmacol.* 28:1003~1012.
9. Lands AM, Arnold A, McAuliff JP, et al. 1967. Differentiation of receptor systems activated by sympathomimetic amines. *Nature.* 21:597~598.
10. Limbird LE, Lefkowitz RJ. 1976. Adenylate cyclase-coupled beta adrenergic receptors, effects of membrane lipid-perturbing agents on receptor binding and enzyme stimulation by catecholamines. *Mol Pharmacol.* 12:556~564.
11. Micky JV, Tate R, Mullikin D, et al. 1976. Regulation of adenylate cyclase coupled beta adrenergic receptor binding sites by beta adrenergic catecholamines in vitro. *Mol Pharmacol.* 12:409~415.
12. William LT, Lefkowitz RJ. 1976. Alpha adrenergic receptor identification by ^3H dihy-

- droerocryptine binding. *Science*. 192:791~799.
13. Bolton TB. 1979. Mechanism of action of transmitters and other substances on smooth muscle. *Physiol Rev*. 220:606~718.
 14. Kim JH, Kim YK. 1991. Purinergic innervation on isolated renal artery of rabbit. *Korean J Vet Res*. 31(4):389~395.
 15. Stoner J, Manganiello VC, Vaughan M. 1974. Guanosine cyclin 3', 5'-monophosphate and guanylate cyclase activity in guinea pig lung. Effects of acetylcholine and cholinestrase inhibitors. *Mol Pharmacol*. 10:155~163.
 16. Kim JH, Kim CS. 1984. Effects of autonomic drugs on the motility of ileal smooth muscle in rabbit. *J Gyeongsang Nat Univ*. 23(1):157~161.