영남의대학술지 제12권 제2호
The Yeungnam Univ. Med. J.
Vol. 12. No. 2. December 1995.

# 흰쥐의 적출배뇨근에서 baclofen의 콜린성신경 억제작용

영남대학교 의과대학 약리학교실

이광윤 · 이근미 · 최은미 · 최형철 · 하정희 · 김원준

## 서 론

γ-Aminobutyric acid (GABA)가 말초신경계에서도 신경전달체로 작용함이 밝혀진 이후 말초장기에서의 기능 조절과 GABA의 연관성에 대한 연구가 계속되었다.[1-5] 그후 GABA 수용체의 두가지 다른 subtype 즉 muscimol 및 baclofen 의존성 수용체들이 존재함을 밝혀냈었으며, 이들은 각각 $GABA_A$ 및 $GABA_B$ 수용체라 명명하였다.[6,7] 말초성 GABA 수용체의 효현제 및 길항제의 선택성은 중추성 GABA 수용체의 그것과 유사하다고 하며,[8] 이 상이한 두 수용체의 의해 GABA는 말초 장기의 기능에 복합적인 이중 작용을 나타낼 것이라 생각하였다.

한편 방광 조직에도 GABA 수용체가 존재하여 신경절후홍분성 신경섬유의 기능을 조절한다는 보고들이 있다. Taniyama 등[4]은 해명의 척출 방광에서는 $GABA_A$ 수용체가 콜린성 신경인성 수축 반응을 억제시켰다고 보고하였다. 또 Maggi 등[9,10]은 GABA가 해명의 방광 수축성에 이중적 효과를 나타내는데, $GABA_A$ 수용체는 비아드레날린성-비콜린성(NANC) 홍분성 신경전달을 증가시키고 $GABA_B$ 수용체는 콜린성 및 NANC성 홍분성 신경 전달을 억제시킨다고 보고하였다. 한편 생쥐[11]와 가토[12]의 적출방광에서는 $GABA_B$ 수용체가 전기장자극 유발 수축반응의 콜린성 요소에 대한 억제 작용을 매개한 것으로 보고되었다. 이와같이 방광에 존재하는 GABA 수용체의 방광 수축성에 대한 작용은 종간의 차이로 인하여 일치된 결론을 내지 못하고 있다. 흰쥐 방광에서의 GABA 수용체에 대한 연구보고로는 GABA가 흰쥐의 방광수축성을 저하시켰다는 보고와[13] $GABA_B$ 수용체 효현제인 baclofen이 부교감신경의 절전섬유[13] 및 절후섬유[14] 자극에 의한 방광 수축을 억제하였다는 보고들이 있다.

이에 본 실험에서는 흰쥐 방광에서 적출한 배뇨근절편을 사용하여 전기장자극을 가하고 이로 인한 수축에 대해 $GABA_B$ 수용체의 선택적인 효현제인 baclofen이 어떤 영향을 미치는지 검색하였다.

## 재료 및 방법

실험동물은 체중 200-250 g의 흰쥐(Sprague-Dawley)로서 성별에 관계없이 사용하였다. 먼저 흰쥐는 단두하여 희생시켰으며, 즉시 복부를 정

※ 93년도 기초의학연구소 연구비 보조로 이루어짐.

중절개하여 방광을 조심스럽게 분리 적출하였다. 적출된 방광은 4℃의 Tyrode 영양액내에서 지방과 점막을 제거한 후 vortex 하방 3 mm에서 폭 2 mm의 수평 고리를 잘라낸 후, 이 고리의 후방 중간 지점을 잘라 길이 약 1.5 cm의 배뇨근 절편으로 만들었다. 배뇨근 절편은 양끝을 견사로 결찰하여 한쪽 끝을 1 ml의 Tyrode 완충용액(이하 영양액이라 함)이 함유되어 있는 적출 근편 실험조(Biancani's isolated muscle bath)의 기저부에 고정하고 다른 한쪽 끝을 등척성 장력측정기(Force displacement transducer, FT-03, Grass)에 고정하여, polygraph에 그 수축력을 묘기하였다. 실험조내의 영양액의 온도는 37℃로 유지시키고, 95% 산소와 5% 이산화탄소의 혼합 기체를 공급하여 pH를 7.4로 유지하였다. 본 실험에 사용한 영양액은 NaCl 136.9, KCl 2.68, $NaHCO_3$ 11.90, $NaH_2PO_4$ 0.42, $MgCl_2$ 10.05, $CaCl_2$ 1.84, Glucose 5.5 (mM)로 제조하였다.

상기의 영양액내에서 최초 2 g의 수동 장력을 가한 후 60 분 동안 영양액을 관류시켰다가, 관류를 멈춘 후 최소한 60 분 이상 근절편을 안정시켜 그 장력이 일정하게 유지된 상태에서 실험을 실시하였다.

전기장 자극 실험은 실험조 내에 장치된 두개의 백금선 전극(직경 0.7 mm, 간격 5 mm)의 중앙에 위치한 배뇨근 절편에 electronic stimulator(Nihon Kohden, SEN 3201)을 사용하여 실시하였으며, 먼저 monophasic square wave electric pulise(2 Hz, 20 msec duration, 60 VDC)를 8 분간 가하여 나타나는 수축을 기록하고, 30 분 후에 같은 자극을 다시 가하였은데, 두번째 자극의 중간시점(4 분)에서 atropine 또는 baclofen을 각각 $10^{-5}$, $10^{-4}$ 및 $10^{-3}$M의 농도로 첨가하였다. Atropine을 첨가한 군과 baclofen을 첨가한 군 모두에서 전기장자극이 끝날 무렵에 acetylcholine을 $10^{-6}$M의 농도로 첨가하여 장력의 변화를 관찰하였다.

그림 1은 본 실험에서 관찰된 몇가지 장력의 변동 양상을 묘기한 것이다. 먼저 8분간의 전기장 자극을 가했을 때 중간시점(안정점)의 안정된 장력을 100%로 설정하고 전기장자극이 끝나는 시점의 장력을 그 백분율로 표시하여 이를 대조치로 하였다. 두번째 자극의 중간시점에서 약물을 첨가하기 직전의 장력을 또다시 100%로 설정하고 약물을 첨가하여 전기장자극이 끝나는 시점의 장력을 그 백분율로 환산한 것을 실험성적으로 두어 이 성적을 대조치와 비교하였다. 각 약물 첨가군의 수는 atropine 첨가군은 각 농도마다 10개 절편으로 하였고, baclocfen 첨가군은 각 농도마다 13개 절편으로 하였다.

Baclofen의 퓨린성전달기전에 미치는 영향을 관찰하기 위하여 2 Hz의 전기장자극(20 msec duration, 60 VDC)을 2 분간 가하여 초기반응의 강도를 수축력(g)으로 측정하였는데, $\alpha,\beta$ -methylene-adenosine 5'-triphosphate(mATP) $10^{-4}$M와 baclofen $10^{-4}$M를 각각 전처치한 후에 같은 전기장자극을 다시 가하여 대조실험의 성적과 비교하고 이후 adenosine 5'triphosphate(ATP) $10^{-3}$M를 첨가하여 이에 대한 반응을 관찰하였다.

각 약물 처치 전후의 성적의 유의성 검정은 동일 절편에서의 백분율변화는 paired t-test를 사용하였으며, 서로 다른 근절편으로 구성된 실험군과 대조군의 성적은 unpaired t-test를 시행하였고, p 값이 0.05 미만일 때 유의한 것으로 판정하였다.

본 실험에 사용한 atropine sulfate(Fluka AG, 한일약품 기증), baclofen(Sigma), 및 acetylcholine (Sigma) $\alpha,\beta$-methylene-adenosine 5'-triphosphate (Sigma), adenosine 5'-triphosphate(Sigma) 등의 약물은 증류수에 용해시켜 사용하였다.

## 성 적

그림 1은 전기장자극에 의한 장력의 변화를 polygraph로 묘기한 것이다. 그림 1에서 A, B 및 C는 장력변화의 유형별로 대표적인 예를 든 것인데, A는 드문 예로서 자극의 초기부터 8 분동안 한결같은 장력을 유지하였다. 30 분간 휴식 후 다시 같은 자극을 가하였을 때도 유사한 형태로 수축하였는데 baclofen $10^{-5}$M를 첨가하였을 때 장력이 약간의 감소가 있었다. 이에 acetylcholine을 $10^{-6}$M의 농도로 첨가하였을 때 장력의 급격한 증가가 관찰되었다. B와 C는 전기장자극에 대한 보편적인 반응양상을 보인 예인데, 장력의 변화가 두개의 요소로 나뉘어진다. 즉 초기의 급격한 수축과 이완이 일어나는 부분과 후기의 안정된 수평형의 부분이 그것이다. 본 실험에서는 이 후기의 안정을 이룬 상태에서 atropine이나 baclofen을 첨가하여 장력의 변화를 관찰하였다. C에서의 특기할 만한 것은 atropine을 $10^{-3}$M의 농도로 첨가한 후에는 acetylcholine을 첨가하여도 장력의 변화가 전혀 없었다. 이와 같은 실험을 통하여 얻은 성적은 표 1과 2에 나타내었다.

표 1은 전기장자극시 atropine을 첨가하고 이어서 acetylcholine을 첨가했을 때의 성적을 나타낸 것이다. 초기의 기본장력은 대개 0.4 g 전후이었으며 atropine $10^{-5}$M를 첨가한 군에서는 대조실험에서 안정점의 장력은 0.91±0.14 g이었고 자극종료시의 장력은 0.87±0.13 g으로서 평균 94±7%까지 감소하는 경향을 보였는데, atropine 첨가 실험에서는 안정점의 1.20±0.18 g

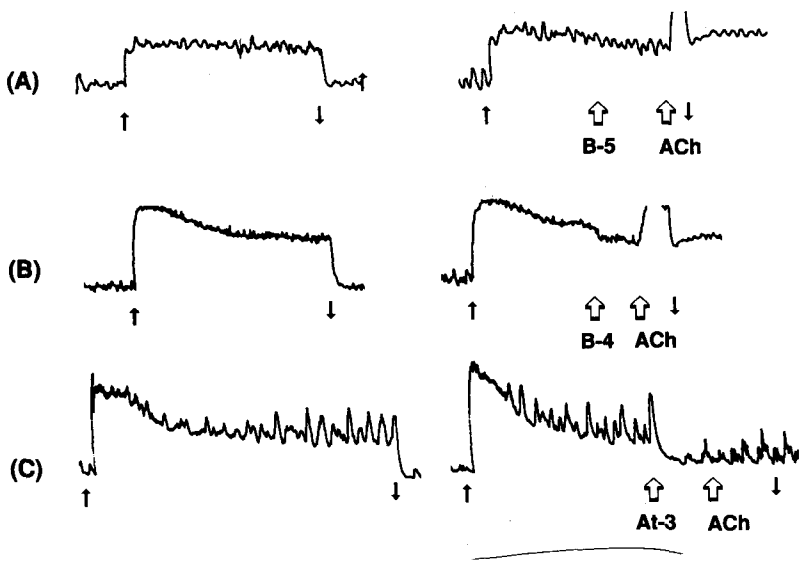


Fig. 1. Typical drawings of the changes in tensions of detrusor strips isolated from rat. (A) and (B):Baclofen $10^{-4}$M(B-4) and $10^{-5}$M(B-5), respectively, was added prior to the addition of acetylcholine $10^{-6}$M(ACh). Black arrows upward and downward indicate the start and stop of electric field stimulation, respectively. B-5, B-4, AT-3 : baclofen $10^{-5}$ and $10^{-4}$M, atropine $10^{-3}$M, respectively. Ach:acetylcholine $10^{-6}$M

Table 1. Effect of atropine on the eletric field stimulation-induced contraction in the isolated rat detrusor

| T(g) (%) | Control | | | Atropine | | | Ach |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Basal | mid2Hz | end2Hz | Basal | mid2Hz | Atrp | |
| −5 | 0.43 ± 0.08 | 0.91 ± 0.14 (100) | 0.87 ± 0.13 (94 ± 7) | 0.38 ± 0.09 | 1.20 ± 0.18 (100) | 1.08 ± 0.17 (83 ± 10)* | 1.35 ± 0.29 |
| −4 | 0.42 ± 0.07 | 0.81 ± 0.12 (100) | 0.78 ± 0.12 (91 ± 4) | 0.35 ± 0.09 | 1.11 ± 0.19 (100) | 0.91 ± 0.17 (70 ± 7 )* | 0.91 ± 0.14 |
| −3 | 0.44 ± 0.08 | 0.97 ± 0.12 (100) | 0.95 ± 0.11 (97 ± 6) | 0.45 ± 0.07 | 1.53 ± 0.20 (100) | 0.82 ± 0.10 (37 ± 5 )* | 0.80 ± 0.08 |

mid2Hz: the midpoint of EFS-induced contraction for 8 minutes. Ach: acetylcholine $10^{-6}$M.
Bcf: Addition of baclofen. T(g): tension of muscle strips in gram weight.
(%): percentage of the tensions changed spontaneously in control state and changed by additions of baclofen at the end (counter point of end2Hz) of 8 minutes EFS-period.
Values are expressed as mena±SE.
* <0.05: significantly different from the %-changes in control state (n=10 in each group).

에서 부터 1.08±0.17 g으로 평균 83±10%까지 감소하였고 이는 대조실험에 비하여 유의하였다 ($p<0.05$). 이 실험군에 이어서 첨가한 acetylcholine에 의해서는 장력이 1.35±0.29 g까지 증가하는 경향을 보였으나 유의성은 인정되지 않았다. Atropine을 $10^{-4}$M의 농도로 첨가한 군에서는 1.11±0.19 g에서 부터 0.91±0.17 g까지 70±7%로서 대조실험의 경우 0.81±0.12 g에서 부터 0.78±0.12 g까지의 91±4%에 비해 유의하게 ($p<0.05$) 많이 감소하였다. Atropine을 $10^{-3}$M의 농도로 첨가한 군에서는 실험시 1.53±0.20 g에서 부터 0.82±0.10 g까지 37±5%로 감소하여 대조실험에서의 97±6%에 비해 유의하게 많이 감소하였다. 이들 atropine $10^{-4}$M 군과 $10^{-3}$M에서 acetylcholine을 첨가하였을 때의 장력은 각각 0.91±0.14 g 및 0.89±0.08 g으로서 거의 변화가 없었다. 그림 2는 이 atropine 실험의 전과정에 걸친 장력의 변화를 g단위로 나타낸 것이다. 그리고 그림 3은 atropine에 의한 장력의 변화를 백분율로 표현한 성적을 대조실험과 비교한 것이다.

표 2는 전기장극시 baclofen을 첨가하고 이어서 acetylcholine을 첨가했을 때의 성적을 나타낸 것이다. 초기의 기본장력은 대개 0.5 g 전후이었으며 baclofen $10^{-5}$M를 첨가한 군에서는 대조실험에서 안정점의 장력은 1.40±0.19 g이었고 자극종료시의 장력은 1.37±0.17 g으로서 평균 99±5%까지 경미하게 감소하는 경향을 보였는데, baclofen 첨가 실험에서는 안정점의 1.20±0.16 g에서 부터 0.91±0.13 g으로 평균 73±12%까지 감소하였고 이는 대조실험에 비하여 유의하였다 ($p<0.05$). 이 실험군에 이어서 첨가한 acetylcholine에 의해서는 장력이 2.48±0.27 g까지 현저히 ($p<0.05$) 증가하였다. Baclofen을 $10^{-4}$M의 농도로 첨가한 군에서는 1.76±0.20에서 부터 1.43±0.16 g까지 73±6%로서 대조실험의 경우 1.79±0.17 g에서 부터 1.74±0.18 g까지의 95±4%에 비해 유의하게 ($p<0.05$) 많이 감소하였다. Baclofen을 $10^{-3}$M의 농도로 첨가한 군에서는 실험시 1.65±0.22 g에서 부터 1.23±0.17 g까지 64±7%로 감소하여 대조실험에서의 96±4%에 비해 유의하게 많이 감소하였다. 이들 baclofen $10^{-4}$M군과 $10^{-3}$M군에서 acetycholine을 첨가하였을 때의 장력은 각각 2.78±0.33 g 및 2.53±0.34 g으로서 각각 현저하게 ($p<0.05$) 증가

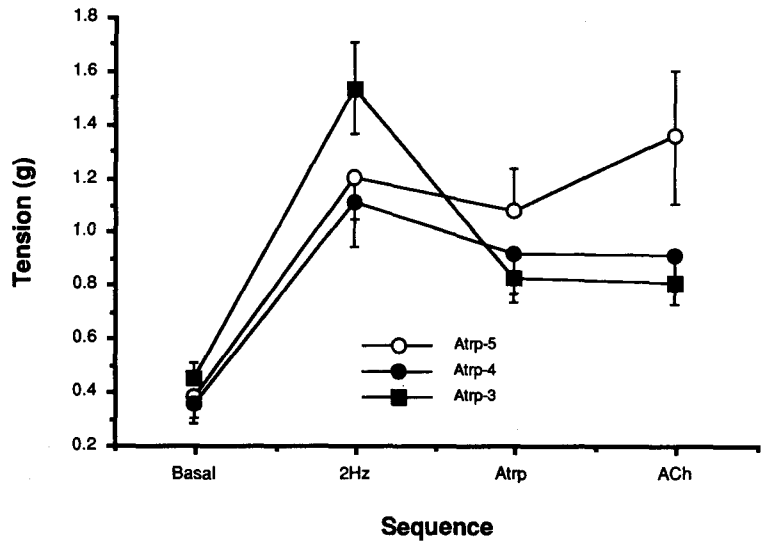


Fig. 2. Effect of atropine on EFS-induced and acetylcholine-induced contractions of isolated rat detrusor. Atrp-5, Atrp-4, Atrp-3: Baclofen $10^{-5}$, $10^{-4}$ and $10^{-3}$M, respectively. 2Hz: electric field stimulation by 60 VDC, 2 Hz, 20 mSec.
* <0.05: significantly different from the sequence of atropine addition.

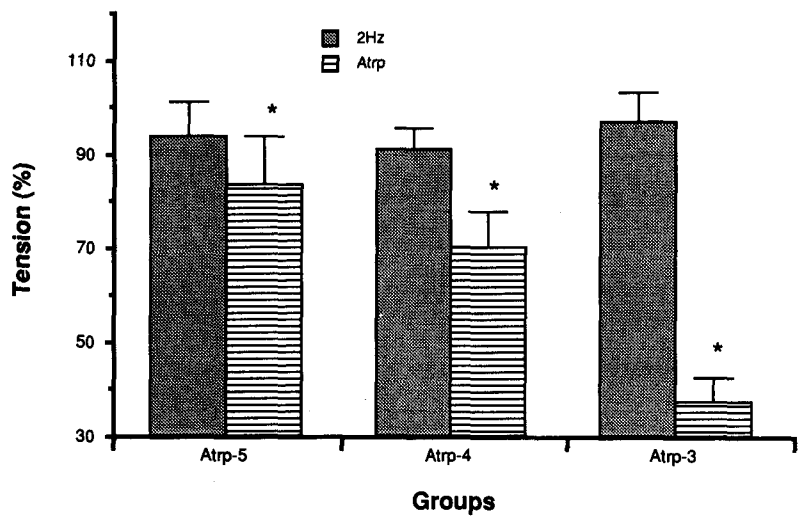


Fig. 3. Effect of atropine on EFS-induced contraction in the isolated rat detrusor. Atrp-5, Atrp-4, Atrp-3: $10^{-5}$, $10^{-4}$ and $10^{-3}$M, concentrations, respectively. 2Hz: electric field stimulation by 60 VDC, 2 Hz, 20 mSec.
* <0.05: significantly different from 2 Hz-EFS(control) state.

Table 2. Effect of baclofen on the eletric field stimulation-induced contraction in the isolated rat detrusor

| T(g) (%) | Control | | | Atropine | | | Ach |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Basal | mid2Hz | end2Hz | Basal | mid2Hz | Bcf | |
| -5 | 0.47 ± 0.06 | 1.40 ± 0.19 (100) | 1.37 ± 0.17 (99 ± 5) | 0.41 ± 0.08 | 1.20 ± 0.16 (100) | 0.91 ± 0.13 (73 ± 12)* | 2.48 ± 0.27† |
| -4 | 0.57 ± 0.05 | 1.79 ± 0.17 (100) | 1.74 ± 0.18 (95 ± 4) | 0.55 ± 0.08 | 1.76 ± 0.20 (100) | 1.43 ± 0.16 (73 ± 6)* | 2.78 ± 0.33† |
| -3 | 0.44 ± 0.05 | 1.84 ± 0.22 (100) | 1.78 ± 0.21 (96 ± 4) | 0.37 ± 0.06 | 1.65 ± 0.22 (100) | 1.23 ± 0.17 (64 ± 7)* | 2.53 ± 0.34† |

mid2Hz: the midpoint of EFS-induced contraction for 8 minutes (60VDC, 2Hz, 20mSec)
Bcf: addition of baclofen. T(g) : tension of muscle strips in gram weight. Ach: acetylcholine $10^{-6}$M
(%): percentage of the tensions changed spontaneously in control state and changed by additions of baclofen at the end (counter point of end2Hz) of 8 minutes EFS-period.

Values are expressed as mena±SE. †$p<0.05$: significantly different from baclofen addition.
* <0.05: significantly different from the %-changes in control state.(n=13 in each group)

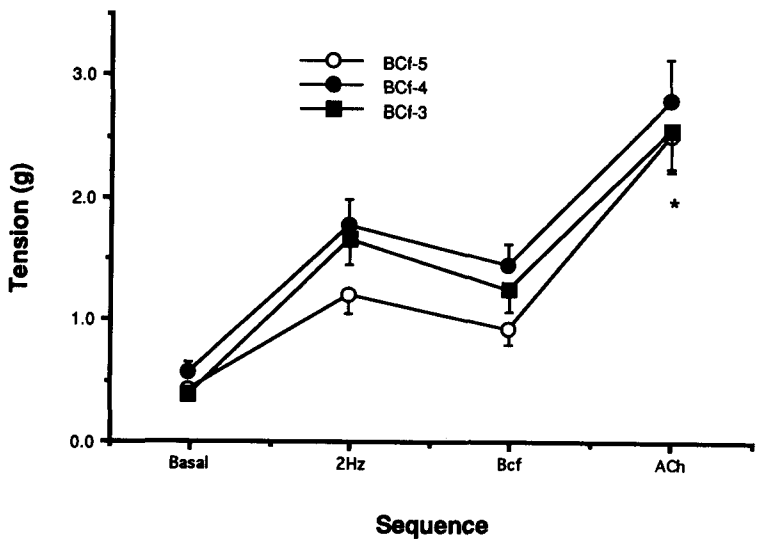


Fig. 4. Effect of baclofen on EFS-induced and acetylcholine-induced contractions of isolated rat detrusor. BCf-5, BCf-4, BCf-3: Baclofen $10^{-5}$, $10^{-4}$ and $10^{-3}$M, respectively. 2Hz: electric field stimulation by 60 VDC, 2 Hz, 20 mSec.
* <0.05: significantly different from the sequence of atropine addition.

하는 것을 볼 수 있었다. 그림 4는 이 baclofen 실험의 전과정에 걸친 장력의 변화를 g 단위로 나타낸 것이다. 그리고 그림 5는 baclofen에 의한 장력의 변화를 백분율로 표현한 성적을 대조실

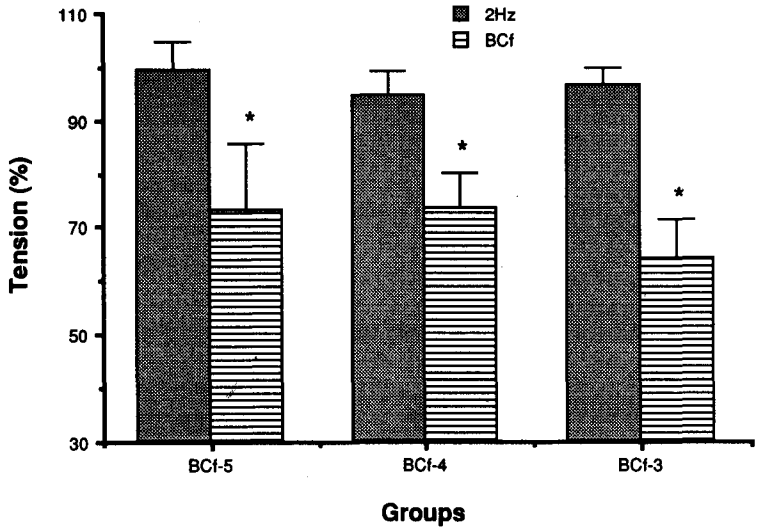


Fig. 5. Effect of baclofen on EFS-induced contraction in the isolated rat detrusor. BCf-5, BCf-4, BCf-3: $10^{-5}$, $10^{-4}$ and $10^{-3}$M, concentrations, respectively.
* <0.05: significantly different from 2 Hz-EFS(control) state.

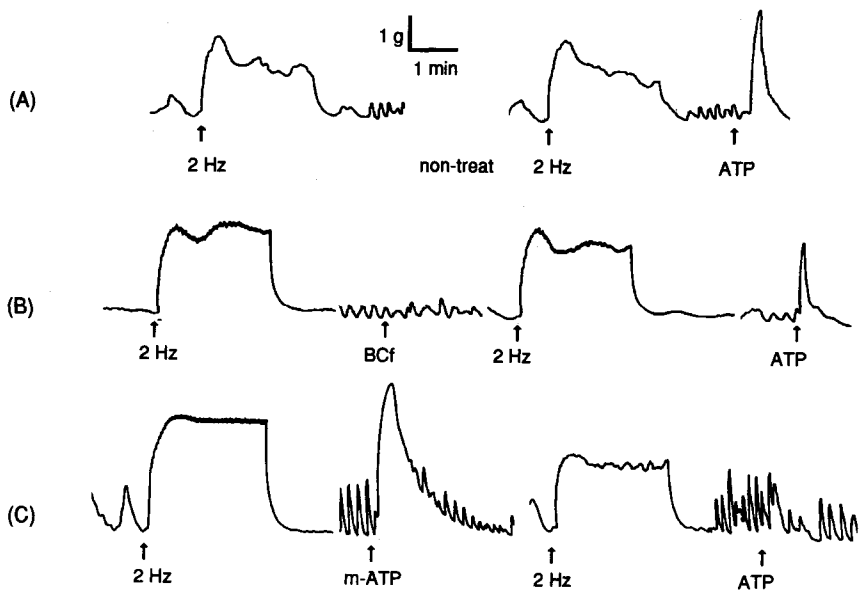


Fig. 6. Typical tracings of 2 Hz-EFS-induced contractions of rat detrusor muscle. 2Hz: electric field stimulation (2 Hz, 60 VDC, 20 msec duration, 2 minutes train). T: treatment of drug. BCf: baclofen $10^{-4}$M. mATP: $\alpha,\beta$-methyl ATP $10^{-4}$M. ATP: adenosine triphosphate $10^{-3}$M.

험과 비교한 것이다.

그림 6은 baclofen의 퓨린성 전달기전에 대한 작용을 관찰한 실험예이며 그 측정치는 표3에 나타낸 바와 같다. A에서 처음 전기장자극후 30분 후에 같은 자극을 반복하였을 때 근절편의 수축성을 거의 동일하게 나타났으며 (2.15±0.42 g), ATP $10^{-3}$M를 첨가하였을 때 3.23±0.28 g의 강한 수축반응을 보였다.

Baclofen $10^{-4}$M를 전처치하였을 때는 1.87±0.27 g으로서 대조실험의 2.33±0.30 g에 비하여 약간 감소하는 경향을 보였으나 통계적으로 유의하지 않았다. 이어서 ATP $10^{-3}$M를 첨가하였을

Table 3. Effect of baclofen and mATP on the early phase of electric field stimulation-induced contraction in the isolated rat detrusor

| Group | Δ T(g) | | | |
|---|---|---|---|---|
| | 2Hz | Add | 2Hz | ATP |
| Control (none) | 2.12 ± 0.28 | - | 2.15 ± 0.42 | 3.23 ± 0.28 |
| Bacloren-4 | 2.33 ± 0.30 | 0.21 ± 0.12* | 1.87 ± 0.27 | 2.44 ± 0.70 |
| mATP-4 | 2.49 ± 0.46 | 2.98 ± 0.63 | 1.93 ± 0.45 | 0.14 ± 0.08* |

$2Hz_1$ and $2 Hz_2$: the EFS-induced contractions for 2 minutes(60VDC, 2Hz, 20 mSec) before(1) and after(2) additions of drugs. Add: Addition of, baclofen, mATP or none for control. Δ T(g): increase in tension of muscle strips.
Baclofen-4: Addition of baclofen $10^{-4}$M. mATP-4: $\alpha,\beta$-methyl ATP $10^{-4}$M. ATP: adenosine triphosphate $10^{-4}$M
Values are expressed as mean±SE. (-: not measuredm, no change)
* $p<0.05$: significantly different from control (n=12 in each group).

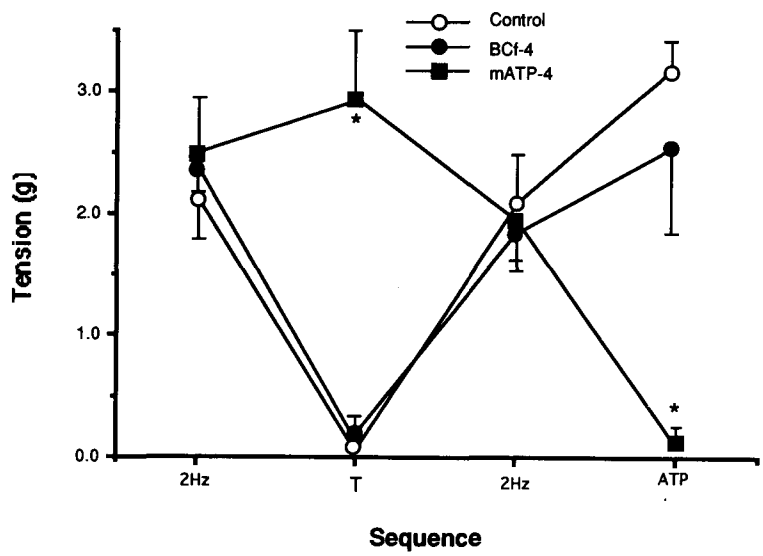


Fig. 7. Effects of $\alpha,\beta$-methylene ATP and baclofen on the EFS-and ATP-induced contractions in rat detrusor muscle. 2 Hz: electric field stimulation (2 Hz VDC, 60V, 20msec, 2 minutes train). BCf-4 and mATP-4 mean the additions of baclofen $10^{-4}$M and $\alpha,\beta$-methylene ATP $10^{-4}$M, respectively. Error bars indicate SE. * $p<0.05$:significantly different from control (n=12 for each gruop).

때는 2.44±0.79 g의 수축반응을 보였다. mATP $10^{-4}$M를 전처치한 군에서 전기장자극에 의한 수축반응 (1.93±0.45 g)은 mATP처치전 (2.49±0.46 g)에 비하여 감소하는 경향을 보였으나 유의하지 않았고, 이어서 첨가된 ATP $10^{-3}$M에 대해서는 거의 수축반응이 나타나지 않았다 (0.14±0.08 g). 이 성적은 그림 7에 도시하였다.

## 고 찰

골반 신경절[15] 및 중추신경계[16]에서의 방광 운동성에 대한 GABA성 조절에 대한 연구는 일찌기 시작되었으며, 최근에는 GABA가 말초 신경계에서 신경 전달체로 작용한다는 보고들이 있어[1,2] 적출방광 조직을 이용한 GABA 수용체의 선택적인 효현제 및 길항제의 연구가 시작되었다. 이러한 연구의 결과 말초성 GABA수용체에는 두가지의 확실히 다른 종류가 존재한다고 밝혀졌는데,[6,7] 이 중 $GABA_A$ 수용체는 신경원의 체부에 존재하고,[17] 이것이 활성화되면 저장되어 있던 신경전달체가 유리된다고 하였다.[6,17] 또 $GABA_B$ 수용체는 신경말단에 존재하며 이것이 활성화되면 저장되어 있던 신경전달체의 방출을 억제시키는 역할을 한다고 하였다.[17,18] 이러한 $GABA_A$ 및 $GABA_B$ 수용체의 작용에 대한 많은 연구에도 불구하고 종간의 차이로 일치된 결과를 내릴 수 없었으나, 대개 $GABA_A$ 혹은 $GABA_B$ 수용체를 통하여 신경절후 흥분성 신경지배를 조절하여 방광의 운동성을 조절하는 것으로 나타났다. 본 실험에서는 배뇨근 절편에 전기장 자극을 가하여 수축을 유발시킨 후, 이 수축반응에 미치는 baclofen의 작용을 atropine의 작용과 비교하였다. 본 실험과 유사한 조건에서 행해진 연구에서 Ha 등[14]과 Lee 등[19]은 흰쥐 배뇨근 절편의 전기장자극 유발 수축은 신경절 봉쇄제인 hexamethonium에 의해 영향을 받지 않는 동시에, sodium 통로 봉쇄작용으로 인하여 신경의 자극전도를 억제시키는 tetrodotoxin에 의해 완저히 소멸되는 것을 관찰하여, 전기장자극은 신경절후신경의 흥분으로 인해 유리되는 수축성 신경전달체에 의해 유발되는 것을 확인하였다.

본 실험에서 전기장자극을 장시간 지속시켰을 때 초기의 급격한 장력의 증감과 후기의 안정된 장력의 증가가 인지되었는데, 이는 Maggi 등[20]이 제시한 흰쥐방광에서 관찰된 전기장자극 유발 수출의 'early component'와 'late component'에 해당하는 것으로서, 그들은 후자가 atropine에 의해서 예민하게 억제된다고 하였다. 따라서 본 연구자는 8분간의 전기장자극 중 후기의 안정기에 접어든 4분경에 $GABA_B$ 수용체 효현제인 baclofen을 첨가하여 이로 이후 자극이 끝날 때까지의 장력의 감소를 앞서 실행한 자연적 감소와 비교하였다. 그 결과 baclofen은 전기장자극 유발 수축을 억제하였다. 이러한 결과에서 볼 때 흰쥐 방광의 $GABA_B$ 수용체는 생쥐,[11] 가토[12] 및 해명[4,9,10]의 방광에서와 마찬가지로 배뇨근의 신경절후 흥분성지배를 억제한다고 생각되었다.

흰쥐 방광에서의 GABA 수용체에 관한 연구는 많지 않으나 몇몇 연구자가 상반된 견해를 주장하고 있다. Sillen 등[21]은 baclofen이 중추신경계에 대한 작용으로 방광 반사항진증을 억제한다고 하였고, Naggi 등[13]은 baclofen이 절전신경섬유 자극에 의한 방광수축을 억제한다고 하였다. 또 최근의 연구결과로는 Ha 등[14]이 baclofen의 $GABA_B$ 수용체를 통한 방광근 이완작용을 보고한데 반해서 Igawa 등[22]은 baclofen이 배뇨근의 수축을 억제하는 것은 말초의 GABA 수용체와는 아무런 연관성이 없이 다만 중추신경계에 대한 작용에 의한다고 주장하였다.

방광에는 콜린성 무스카린성 수용체가 존재하며 골반신경을 따라 분포하는 부교감신경의 흥분성 신경전달체인 acetylcholine에 의해 수축반응을 나타내나, 골반신경자극 또는 니코틴성 신경절 흥분 약물에 대한 방광 수축 반응의 일부분이 atropine에 의해 봉쇄되지 않는다고 보고되었다. 이는 골반 신경 섬유 자극 반응의 일부가 비콜린성인 가능성을 시사하고 있으며, 이에 관여하는 신경전달 물질은 ATP 혹은 펩타이드성 물질이라고 추측하여 이를 뒷받침하는 몇몇 보고들이 있다.[23-26] 이 요소들 중 배뇨반사의 과정 중에서 조기의 일시적인 수축은 비콜린성 요소에 의해 매개되며, 후기의 지속적인 수축 반응은 콜린성 요소에 의해 매개된다고 한다.[23] Ha 등[14]은 baclofen이 고농도의 atropine에 의해서도 소멸되지 않는 수축 반응에는 더 이상 영향을 미치지 않았기 때문에 $GABA_B$ 수용체는 주로 콜린성 신경지배를 억제한다고 보고하였다.

위와 같은 Ha 등[14]의 연구결과들을 토대로 본 실험에서는 baclofen의 콜린성 신경지배에 대한 억제작용이 신경섬유에 대한 억제작용인지 배뇨근세포에 있는 무스카린성 수용체에 대한 억제작용인지를 관찰해 보기로 하였다. Baclofen은 전기장자극유발 수축의 후기의 지속적 수축반응을 atropine과 같은 양상으로 억제하였으나, atropine과는 달리 뒤이어 첨가된 acetylcholine의 수축유발 작용을 길항하지 못하였다. Atropine은 배뇨근 세포에 존재하는 무스카린성 수용체를 봉쇄함으로써 전기장자극으로 인해 부교감신경 말단으로 부터 유리된 acetylcholine의 수용체에 대한 결합을 방지하여 전기장자극유발 수축이나 첨가된 acetylcholine유발 수축을 모두 봉쇄할 수 있었다. 그러나 baclofen은 무스카린성 수용체에 대한 봉쇄작용이 없이 단지 부교감신경의 절후섬유에 작용하여 acetylcholine의 유리를 방해함으로써 전기장자극유발 수축만을 선택적으로 억제하였다고 생각된다.

Chancellor 등[27]과 Igawa 등[28]은 각각 토끼와 흰쥐에서 방광의 수축을 개시하는데에 퓨린성 신경지배가 중요한 역할을 한다고 보고하였다. 본 실험의 결과로는 배뇨근절편의 전기장자극에 의한 초기수축은 mATP와 baclofen에 의해 공히 유사한 수준까지의 감소 경향만을 보였다. 따라서 본 실험의 조건하에서 퓨린성 신경지배는 콜린성 신경지배와 유사한 수준의 공헌을 한다고 볼 수 있으며, mATP는 ATP 유발수축을 거의 완전히 봉쇄하였으나 baclofen은 ATP 유발 수축에 별다른 영향을 미치지 못하였다.

이상의 결과를 종합하면, 흰쥐 방광에는 $GABA_B$ 수용체가 존재하며 baclofen은 이 수용체를 통하여 콜린성신경 말단에서의 신경전달체의 유리를 억제하여 배뇨근의 수축성을 감소시킨다고 사료된다.

## 요 약

배뇨근의 운동성에 대한 baclofen의 억제작용의 기전을 탐구하기 위하여 다음과 같은 실험을 하였다. 흰쥐 (Sprague-Dawley)의 방광에서 적출한 배뇨근절편을 적출근편실험조에 현수하고, 등척성 장력측정기를 사용하여 그 수축력을 묘기하였다. 실험조내의 영양액의 온도는 37℃로 유지시키고, 95% 산소와 5% 이산화탄소의 혼합기체를 공급하여 pH를 7.4로 유지하였다.

배뇨근절편은 전기장자극에 의해 수축하였는데, 8분간의 전기장자극 유발수축 중 최초의 급격한 수축반응은 mATP와 baclofen에 의해 약간 억제되는 경향을 보였으며, 후기 4분간의 수축반응은 콜린성 무스카린성 수용체 봉쇄제인

atropine과 $GABA_B$ 수용체 효현제인 baclofen에 의해 유의하게 억제되었다.

Atropine은 배뇨근 절편의 acetylcholine 유발 수축을 길항하였고, mATP는 ATP 유발 수축을 완전히 봉쇄하였으나, baclofen 존재하에서는 acetylcholine이나 ATP 첨가에 의한 배뇨근의 수축이 영향을 받지 않았다.

이상의 결과를 종합하면, 흰쥐 방광에는 $GABA_B$ 수용체가 존재하며 baclofen은 이 수용체를 통하여 콜린성신경 말단에서의 신경전달체의 유리를 억제하여 배뇨근의 수축성을 감소시킨다고 사료된다.

## 참 고 문 헌


1. Kerr DIB, Krantis A: Uptake and stimulus evoked release of [$^3$H]GABA by myenteric nerves of guinea pig intestine. Br J Pharmacol 78: 271-276, 1983.
2. Jenssen RK, Hills JM, Dennison ME, Burnstock G: Gamma-amino-butyrate as an autoniomic neurotransmitter: release and uptake of [$^3$H] gamma aminobutyrate in guinea pig large intestine and cultured enteric neurons using physiological methods and electron microscopic autoradigraphy. Neuroscience 10: 1427-1442, 1983.
3. Maggi CA, Santioli O, Grimaldi G, Meli A: The effect of peripherally administered GABA on spontaneous contractions of rat urinary bladder in vivo. Gen Pharmacol 14: 455-458, 1983.
4. Taniyama K, Kusunoki M, Tanaka C: Gamma-aminobutyric acid inhibit motility of the isolated guinea-pig urinary bladder. Eur J Pharmacol 89: 163-166, 1983.
5. Sizov PI, Iasnetsov VS: Effect of gamma-aminobutyric acid, its agonists and antagonists on uterine smooth muscle. Biull Eksp Biol Med 100: 576-578, 1985.
6. Kaplita PV, Waters JM, Triggle DJ: GABA action in guinea pig ileas myenteric plexus. Eur J Pharmacol 79: 43-51, 1982.
7. Ong J, Kerr DIB: $GABA_A$ and $GABA_B$ receptor mediated modification of intestinal motility. Eur J Pharmacol 94: 305-312, 1983.
8. Bowery NG, Hill DR, Hudson AL: Characteristics of $GABA_B$ receptor binding sites on rat whole brain synaptic memgranes. Br J Pharmacol 78: 191-206, 1983.
9. Maggi CA, Santicioli P, Meli A: $BABA_A$ and $GABA_B$ receptors in detrusor strips from guinea-pig bladder dome. J Auton Pharmacol 5: 55-64, 1985.
10. Maggi CA, Santicioli P, Meli A: Dual effect of GABA on the contractile activity of the guinea-pig isolated urinary bladder. J Auton Pharmacol 5: 131-141, 1985.
11. Santicioli P, Maggi CA, Meli A: The post-ganglinoinc excitatory innervation of the mouse urinary bladder and its modulation by prejunctional $GABA_B$ receptors. J Auton Pharmacol 6: 53-66, 1986.
12. Santicioli P, Maggi CA, Meli A: GABA B receptor mediated inhibition of field stimulation-induced contractions of rabbit bladder muscle in-vitro. J Pharm Pharmacol 36: 378-381, 1984.
13. Maggi CA, Santicioli P, Giuliani S, Furio M,

Conte B, Meli P, Gragnani L, Meli A: The effects of baclofen on spinal and supraspinal micturition reflexes in rats. Naunyn-Schmiedebergs Arch Pharmacol 336(2): 197-203, 1987.

14. Ha JH, Lee KY, Kim WJ: The action of diazepam in the isolated rat detrusor muscle. J Urol 150(1): 229-234, 1993.
15. De Groat WC: The actions of GABA and related aminoacids on mammalian ganglia, J Pharmacol Exp Ther 172: 384-396, 1970.
16. Sillen U, Persson B, Rubenson A: Involvement of GABA receptors in the regulation of urinary bladder function in anaesthetized rats. Naunyn-Schmiedebergs Arch Pharmacol 314: 195-199, 1980.
17. Kleinrok A, Kilbinger M: GABA and cholinergic transmission in the guinea pig ileum. Naunyn-Schmiedebergs Arch Pharmacol 332: 216-220, 1983.
18. Maggi CA, Manzini S, Meli A: Evidence that $GABA_A$ receptors mediate relaxation of rat duodenum by activationg intramural nonadrenergic noncholinergic neurones. J Auton pharmacol 4: 77-85, 1984.
19. Lee JB, Yoo KJ, Ha JH, Kwon OC, Lee KY, Kim WJ: Mechanism of inhibitory effect of imipramine on isolated rat detrusor muscle in relation to calcium modulation. Kor J Pharmacol 28(1) : 81-89, 1992.
20. Maggi CA, Santicioli P, Meli A: pharmacological evidence for the existence of two components in the twitch response to field stimulation of detrusor strips from the rat urinary bladder. J Auton Pharmacol 5(3): 221-229, 1985.
21. Sillen U, Persson B, Rubenson A: Central effects of baclofen on the L-dopa induced hyperactive urinary bladder of the rat. Naunyn-Schmiedebergs Arch Pharmacol 330(3): 175-178, 1985.
22. Igawa Y, Mattiasson A, Andersson KE: Effects of GABA-receptor stimulation and blockade on micturition in normal rats and rats with bladder outflow obstruction. J Urol 150(2 Pt 1): 537-542, 1993.
23. Burnstock G, Dumsday B, Smythe A: Atropine resistant excitation of the urinary bladder: the possibility of transmission via nerves releasing a purine nucleotide. Br J Pharmacol 44: 451-461, 1972.
24. Westfall DP, Fedan JS, Colby J, Hogaboom GK, O'Donnel JP: Evidence for a contribution by purines to the neurogenic response of the guinea-pig urinary bladder. Eur J Pharmacol 87: 415-422, 1983.
25. Callahan SM, Creed KE: Non-cholinergic neurotransmission and the effects of peptides on the urinary bladder of guinea-pigs and rabbits. J Physiol 374: 103-115, 1986.
26. Levin RM, Ruggieri MR, Wei AJ: Functional effects of the purinergic innervation of the rabbit urinary bladder. J Pharmacol Exp Ther 236: 452-457, 1986.
27. Chancellor MB, Kaplan SA, Blaivas J: The cholinergic and purinergic components of detrusor contractility in a whole rabbit bladder model. J Urol 148(3-1): 906-909, 1992.
28. Igawa Y, Mattiasson A, Andersson KE: Functional importance of cholinergic and

purinergic neurotransmission for micturition contraction in the normal, unanaesthetizede rat. Br J Pharmacol 109(2): 473-479, 1993.

-Abstract-

# Effect of Baclofen on the Cholinergic Nerve Stimulation in Isolated Rat Detrusor

Kwang Youn Lee, Keun Mi Lee, Eun Mee Choi, Hyoung Chul Choi, Jeoung Hee Ha, Won Joon Kim

*Department of Pharmacology*
*College of Medicine, Yeungnam University*
*Taegu, Korea*

This study aimed to investigate the mechanism of action of baclofen on the detrusor muscle isolated from rat. Rats (Sprague-Dawley) were sacrificed by decapitation and exsanguination. Horizontal muscle strips of 2 mm x 15mm were prepared for isometric myography in isolated muscle chamber bubbled with 95% / 5%-$O_2$ / $CO_2$ at 37℃, and the pH was maintained at 7.4

Detrusor strips contracted responding to the electrical field stimulation (EFS) by 2 Hz, 20 msec, monophasic square wave of 60 VDC. The initial peak of EFS-Induced contraction was tended to be suppresed by $\alpha,\beta$-methylene-adenosine 5'-triphosphate (mATP), a partial agonist of purinergic receptor, and baclofen, a $GABA_B$ receptor agonist (statistically nonsignificant).

The late sustained contraction by EFS was suppressed significantly ($p < 0.05$) by additions of atropione, a cholinergic muscarinic receptor antagonist and baclofen.

The adenosine 5'-triphosphate-induced contraction was completely abolished by mA TP but not by baclofen. In the presence of atropine, the subsequent addition of acetylcholine could not contract the muscle strips: but the addition of acetylcholine in the presence of baclofen evoked a contraction to a remarkable extent.

These results suggest that in the condition of present study, the cholinergic innervation may play a more important role than the purinergic one, and baclofen suppresses the contractility of rat detrusor by the stimulation of the $GABA_B$ receptors to inhibit the release of neurotransmitter from the cholinergic nerve ending

Key Words: Bacrofen, $GABA_B$ receptor, Purinergic innervation, Detrusor muscle