

랫드 회장 종주근의 비아드레날린 비콜린성 신경에 의한 수축반응

김태완, 나준호¹, 성태식¹, 강정우¹, 양일석¹, 한호재*

전남대학교 수의과대학 생리학교실/생물공학연구소, ¹서울대학교 수의과대학 생리학교실
(게재승인: 2003년 8월 7일)

Nonadrenergic Noncholinergic Nerve-mediated Contraction of the Longitudinal Muscle of Rat Ileum

Tae-wan Kim, Jun-ho La¹, Tae-sik Sung¹, Jung-woo Kang¹,
Il-suk Yang¹ and Ho-jae Han*

*College of Veterinary Medicine, Biotechnology Research Institute,
Chonnam National University, Gwanju 500-757, Korea*

¹*College of Veterinary Medicine, Seoul National University, Seoul 151-742, Korea*
(Accepted: August 7, 2003)

Abstract: The purpose of this study was to assess the role of tachykinins (TK) in mediating nonadrenergic noncholinergic (NANC) contractions produced by electrical field stimulation (EFS) in the longitudinal muscle of the rat ileum. In the presence of atropine (1 μ M), guanethidine (5 μ M), and L-nitroarginine (L-NNA, 200 μ M), EFS (0.5ms pulse duration, 120 V, 1-20 Hz for 2 min) produced a frequency-dependent slowly-developing tonic contraction with superimposed phasic contractions ('on'-contraction) followed by off slowly-decreasing tonic and superimposed phasic contractions ('off'-contraction) of mucosa-free longitudinal oriented muscle strip. These EFS induced responses were blocked by tetrotoxin. NK₁ receptor selective antagonist L-732,138 strongly inhibited the EFS-induced excitatory responses. However NK₂ receptor selective antagonist, GR 159897 and NK₃ receptor selective antagonist SB 222200 did not significantly inhibited the responses. NK₁ receptor selective agonist [Sar⁹,Met(O₂)¹¹] Substance P and NK₂ receptor selective agonist [β -Ala⁸]-neurokinin A (4-10) induced tonic contraction with superimposed phasic contractions of longitudinal oriented muscle strip and almost blocked by selective antagonist L-732,138 and GR 159897, respectively. But NK₃ receptor selective agonist senktide did not showed any effect. Nifedipine (1 μ M) abolished the contraction produced either by EFS or by the TK receptor agonists [Sar⁹,Met(O₂)¹¹] Substance P or [β -Ala⁸]-neurokinin A (4-10).

It is concluded that, in the longitudinal muscle of rat ileum, both NK₁ and NK₂ receptors modulated the responses to exogenous tachykinins, whereas NK₁ is mainly involved in NANC neuromuscular contraction.

Key words: rat ileum, nonadrenergic noncholinergic (NANC), tachykinin, electrical field stimulation (EFS)

This work was supported by Korea Research Foundation Grant (KRF-1999-005-F00005)

*Corresponding author: Ho-jae Han

Department of Veterinary Physiology, College of Veterinary Medicine
Biotechnology Research Institute, Chonnam National University, Gwangju 500-757, Korea
Tel: +82-62-530-2831, Fax: +82-62-630-2809, E-mail: hjhan@chonnam.ac.kr

서 론

Tachykinin은 하위 무척추동물에서부터 포유동물에 이르기까지 거의 모든 동물 중에서 발견되는 가장 큰 펩타이드 집단중 하나로서, 이들은 중추신경에서 신경 전달물질로 작용할 뿐만 아니라 심혈관과 위장관의 운동 조절에 관여하고, 호흡기, 비뇨생식기, 면역계 등에도 영향을 주며, 통증과 염증반응에도 관여하는 것으로 알려져 있다 [17].

이들은 공통적으로 C-terminal에 Phe-X-Gly-Leu-Met-NH₂의 염기서열을 갖고 있으며, 포유동물에 존재하는 대표적인 tachykinin으로는 substance P (SP), neurokinin A (NKA), neurokinin B (NKB) 등이 있다. 이러한 tachykinin과 결합하는 수용체로는 NK₁, NK₂, NK₃ 등이 있으며, 이들은 각각 SP, NKA, NKB를 선호하나 다른 종류의 tachykinin과도 잘 결합하는 것으로 알려져 있다 [2, 6]. 그리고 근래에 각 NK 수용체에 선택적인 길항제들이 많이 개발되어, tachykinin에 의한 반응이 어떤 NK 수용체를 활성화시켜 일어나는 것인지 구분이 가능해졌다.

위장관에서 tachykinin과 그 수용체의 분포를 보면, 내재신경에서 대표적 tachykinin인 SP, NKA, NKB가 모두 발견되고 있으며, 현재까지 알려진 세 종류의 NK 수용체 역시 모두 위장관에 분포하는 것으로 알려져 있다 [6]. 위장관에서 tachykinin은 주로 비아드레날린 비폴린성 수축 반응을 유발하는 것으로 알려져 있는데, 이들과 결합하는 NK 수용체의 분포는 종과 장관의 부위에 따라 다르게 나타난다. 예를 들면, 사람의 회장 운상근 [24], 기니피그 십이지장 운상근 [23], 랫드의 십이지장과 회장 운상근 [9], 기니피그 근위 결장 운상근 [8, 10], 랫드 근위결장 운상근 [16], 그리고 기니피그 결장 종주근 [7]에서는 전장자극에 의한 비아드레날린 비폴린성 수축에 NK₁과 NK₂가 함께 관여하는 것으로 보고 되었다. 반면에 마우스의 회장 운상근 [15]에서는 NK₁이 관여하고, 사람의 결장 운상근 [3], 기니피그 회장 운상근 [19], 랫드 십이지장 종주근 [20]에서 NK₂가 주로 관여하는 것으로 보고되었다.

한편, 위장관에서 종주근은 운상근과 협조적으로 작용하여 장관의 연동운동을 수행하는데 [4, 18], 운상근에 대해서는 많은 연구가 진행되었으나 종주근에 대한 연구는 상대적으로 미미한 수준이다. 또한, 랫드 회장 종주근에서 전장자극에 의한 수축반응에 어떤 NK 수용체가 관여하는지 아직 보고된 바가 없다. 따라서, 본 실험에서는 각 NK 수용체에 선택적인 효현제와 길항제를 사용하여 흰쥐 랫드 종주근의 비아드레날린 비폴린성 신경매개에 의한 수축반응에 관여하는 NK 수용체를 알아보고자 하였다.

재료 및 방법

실험방법

250-300 g의 SD 랫드를 암수구별 없이 사용하였으며, 경추탈골법으로 희생시킨 후 회맹부로부터 5 cm 떨어진 부위에서 10 cm 정도를 분리하여 실험에 사용하였다. 분리한 회장은 Krebs 용액이 담긴 넓은 초자용기에서 짐막층을 제거한 후 종주근 방향을 따라 2×6 mm의 크기로 절편을 만들었다. 절편의 한쪽은 2 ml 용량의 수평형 organ bath안에 있는 sylgard plate에 편으로 고정시키고, 다른 쪽은 고리를 만들어 등척성 근수축변환기 (Maclab, MLT-100)에 연결하여 0.5 g의 기본장력을 가하였다. 전장자극은 S48 stimulator (Grass)를 이용하였으며, 테이터의 기록과 저장은 매킨토시 컴퓨터와 소프트웨어인 Chart 3.68을 이용하였다. 실험하는 동안 혼합가스(95% O₂ + 5% CO₂)를 주입시키고 미리 가온한 용액 (pH 7.4)을 peristaltic pump를 이용하여 bath 안으로 일정한 속도(1.5 ml/min)로 계속적으로 관류시켰으며, bath 안의 온도를 37±0.5°C로 일정하게 유지시켰다.

비아드레날린 비폴린성 환경을 만들기 위해 atropine (1 μM)과 guanethidine (5 μM)을 Krebs 용액에 항상 첨가하였으며, 또한 nitreergic 신경에 의한 억제성 반응을 억제하기 위해 L-NNA (200 μM)를 항상 첨가하였다. 단, 맨 처음 실험인 atropine의 효과를 보는 실험에서는 guanethidine과 L-NNA만 있는 상황에서 전장자극을 가한 후, atropine을 투여하고 20분이 경과한 후 다시 전장자극을 가하여, atropine을 투여하기 전 후의 반응을 비교하였다. 각 NK 수용체 선택적 길항제는 투여 후 최소 30분이 경과한 다음에 전장자극을 가하거나 또는 각 NK 수용체 선택적 효현제를 투여하였다.

사용약물 및 용액

[Sar⁹Met(O₂)¹¹]-Substance P, [β -Ala⁸]-Neurokinin A (4-10), senktide, L-732,138, GR 159897, SB 22220 등은 Tocris (Ellisville, MO, USA)에서 구입하였으며, N ω -nitro-L-arginine (L-NNA), nifedipine, atropine, guanethidine, nifedipine 등은 Sigma (St. Louis, MO, USA)에서 구입하였다. SB 222200, [β -Ala⁸]-neurokinin A (4-10), L-732,138 등은 DMSO에 녹였으며, GR 159897은 에탄올에, L-NNA는 0.1% HCl에 나머지 약물은 증류수에 녹였다. DMSO, 에탄올 등의 용매의 최종농도는 0.1 %가 안되게 하였다.

Krebs 용액의 조성은 다음과 같다 (mM); NaCl 118, KCl 4.7, KH₂PO₄ 1.2, MgSO₄ 1.2, NaHCO₃ 25, CaCl₂ 2.5, glucose 11. pH는 HCl을 이용하여 7.4로 맞추었다.

자료분석 및 통계

전장자극에 의한 수축의 최대크기는 같은 조직에서 atropine을 투여하기 전 carbachol (CCh, 1 μM)에 의해 나타나는 수축의 크기에 대한 비율로 표시하였다. 한편, on-contraction과 off-contraction의 크기는 전장자극을 주는 동안 또는 자극 후에 나타나는 수축의 면적을 같은 조직에서 기록된 최대 값에 대한 비율로 나타냈다. 그리고 atropine이 없는 조건에서 나타나는 초기수축은 전장자극 개시 후 10 초 이내에 수축의 크기를 측정하였다. 유의성 검정은 경우에 따라 ANOVA와 Student *t*-test를 사용하였으며, p<0.05일 때 유의성이 있는 것으로 간주하였다.

결 과

전장자극 수축에 대한 atropine과 tetrodotoxin의 효과

랫드 회장 종주근 절편은 전장자극(1-20 Hz, 0.5 ms, 2 min)에 의해 자극빈도 의존적 수축반응을 나타냈다. 전장

자극에 의한 이완반응을 억제하기 위해 L-NNA (200 μM)와 guanethidine (5 μM)을 전처치한 후 전장자극을 가하였을 때, 랫드 회장 종주근 절편은 전장자극에 의해 삼상성 (triphasic)의 반응이 나타났다. 즉, 전장자극의 개시와 거의 동시에 나타나는 초기 수축 (initial contraction)과 이어서 서서히 긴장성 수축이 증가하면서 아울러 위상성 수축이 증가되는 'on-contraction' 그리고 전장자극이 끝난 후에도 어느 정도 흥분성이 유지되는 'off-contraction'이 나타났다 (Fig. 1A). 한편 같은 조직에서 atropine을 전처치 하였을 경우에는 전장자극에 의해 이상성 (biphasic)의 반응이 나타났다. 즉, 전장자극이 시작된 후 일정한 시간이 지난 후에 긴장성 수축과 위상성 수축이 서서히 증가되다가 (on-contraction), 전장자극이 종료되면 서서히 긴장성 수축이 감소하고 위상성 수축은 상당시간 유지되는 off-contraction이 나타난다 (Fig. 1B). 또한 atropine이 없을 경우 전장자극이 종료됨과 거의 동시에 긴장성 수축이 급격히 감소하는 모습을 보이나 atropine이 있을 경우 이러한 긴장성 수축의 급격한 감소는 보이지 않고 아주 서서히 감소되는 양상을 보였다 (Fig. 1C, D).

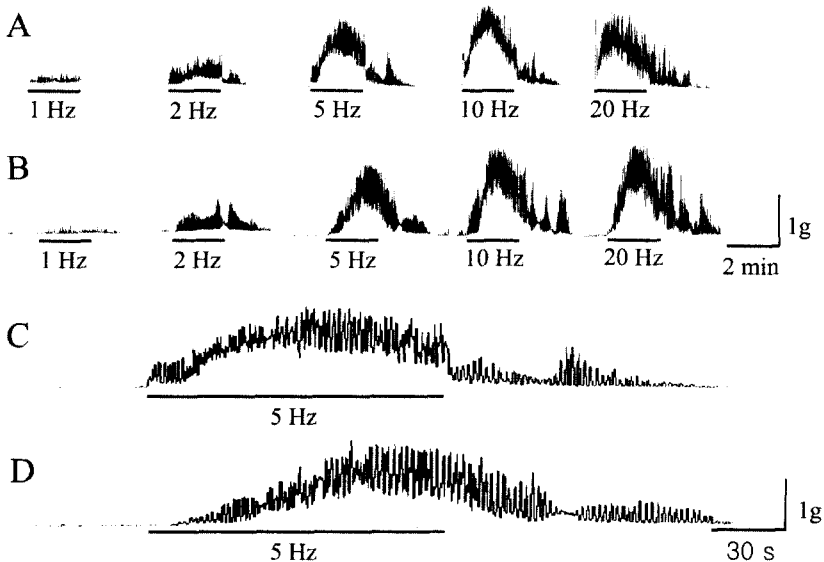


Fig. 1. Typical tracings showing the contractile response of the rat ileal longitudinal muscle to electrical field stimulation (EFS: 1-20 Hz, 0.5 ms, 120 V, for 2 min) in the absence or presence of atropine. In the presence of guanethidine (5 μM) and L-NNA (200 μM) without atropine, the strips showed triphasic responses composed of initial contraction (within 10s) followed by the development of tonic and phasic contraction during the EFS and remaining small tonic and phasic contraction after cessation of EFS (A, C). In the presence of atropine (1 μM), the strips showed biphasic responses consisted of slowly developing tonic and phasic contraction (on-contraction) during the EFS and slowly decaying tonic and phasic contraction (off-contraction) after cessation of EFS (B, D). C and D are expanded tracings of the responses to 5Hz EFS in the absence or presence of atropine, respectively. Bar indicates the application of EFS.

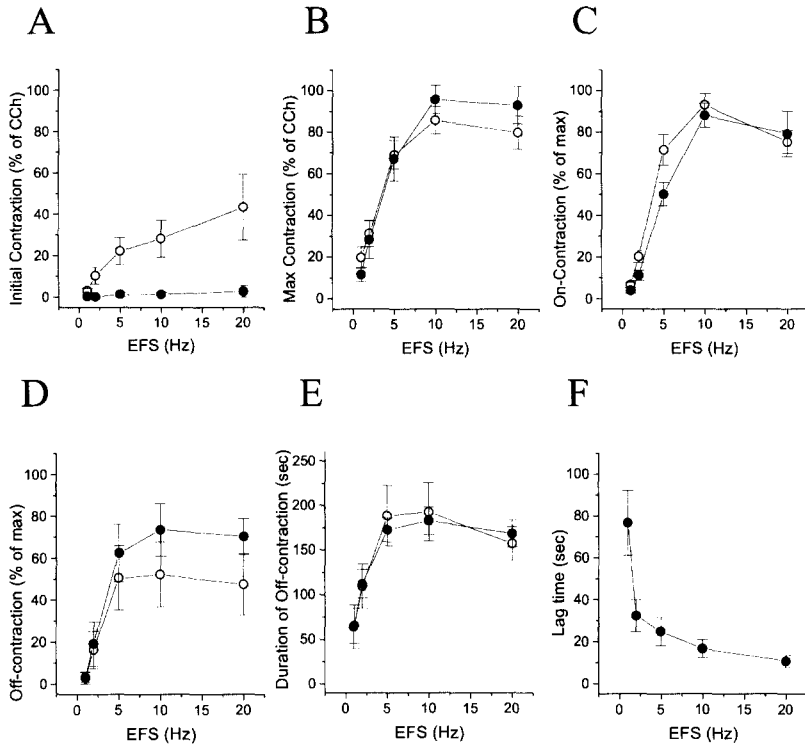


Fig. 2. The contractile response of the rat ileal longitudinal muscle to EFS in the absence (○) or presence (●) of atropine. Atropine ($1 \mu\text{M}$) blocked the initial contractions (A), but did not affect the maximal contractions to EFS in the rat ileal longitudinal muscle (B). On-contraction, off-contraction and duration of off-contraction were not affected by atropine (C, D, E). On the other hand, the lag time between starting of EFS and developing contraction was decreased by increasing the frequency of EFS (F) ($n=6$).

전장자극에 의한 초기수축은 자극빈도 의존적으로 증가하는 양상을 보였으며, atropine에 의해 거의 차단되었다 (Fig. 2A). 그러나, 전장자극에 의해 나타나는 수축의 최대크기는 atropine에 의해 영향을 받지 않았다 (Fig. 2B). 전장자극 중에 나타나는 수축 (on-contraction)의 크기는 자극빈도 의존적으로 커지다가 10 Hz에서 최대 값을 나타낸 후 20 Hz에서는 오히려 감소되는 경향을 나타내었다. 이러한 on-contraction의 크기는 atropine에 의해 별다른 영향을 받지 않았다 (Fig. 2C). 전장 자극 후에 나타나는 off-contraction의 크기 역시 자극빈도 의존적으로 증가하다가 10 Hz에서 최대 값을 나타내었으며, atropine에 크기가 감소되는 경향을 보였지만 유의성은 없었다 (Fig. 2D). 한편, off-contraction이 지속되는 시간 역시 10 Hz에서 최대 값을 보였으며 atropine에 의해 별다른 영향을 받지 않았다 (Fig. 2E). Atropine이 없는 경우 전장자극과 거의 동시에 수축이 일어났으나, atropine이 존재할 경우 상당한 잠복기가 지난 후에 수축이 시작되었다. 이러

한 잠복시간은 자극빈도가 증가할수록 짧아졌다 (Fig. 2F). 이후의 실험에서는 submaximal 한 반응을 일으키는 5 Hz의 전장자극을 사용하였으며, Krebs 용액에 atropine ($1 \mu\text{M}$), guanethidine, L-NNA를 지속적으로 투여하였다.

랫드 회장 중주근의 전장자극에 의한 수축반응은 Na^+ 통로의 억제제인, tetrodotoxin ($1 \mu\text{M}$)에 의해 완전히 차단되었으며, tetrodotoxin을 제거한 후 전장자극을 가하면 다시 수축반응이 나타났다 (Fig. 3).

NANC 수축에 대한 각 NK 수용체 선택적 길항제의 영향

NK₁의 길항제로 알려진 L-732,138 [14] ($10 \mu\text{M}$)을 30분과 60분간 투여한 후 전장자극(5 Hz)을 가하였을 때, 전장자극에 의한 수축의 크기는 투여시간에 비례하여 현저하게 감소되었다. 그러나 NK₂와 NK₃의 길항제로 알려진 GR 159897 [2] ($1 \mu\text{M}$)와 SB 222200 [13] ($1 \mu\text{M}$)은 전장자극에 의한 수축에 영향을 주지 못하였다 (Fig. 4).

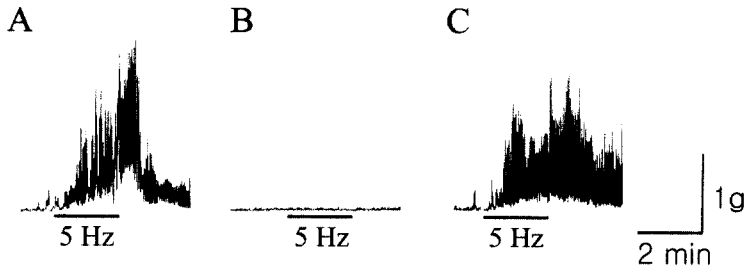


Fig. 3. Effects of tetrodotoxin on EFS-induced contraction. The contractile response of the rat ileal longitudinal muscle to EFS (5Hz) was blocked by tetrodotoxin (1 μ M). And the strip showed the contractile response to EFS (5Hz) again after washing out. Bar indicates the application of EFS.

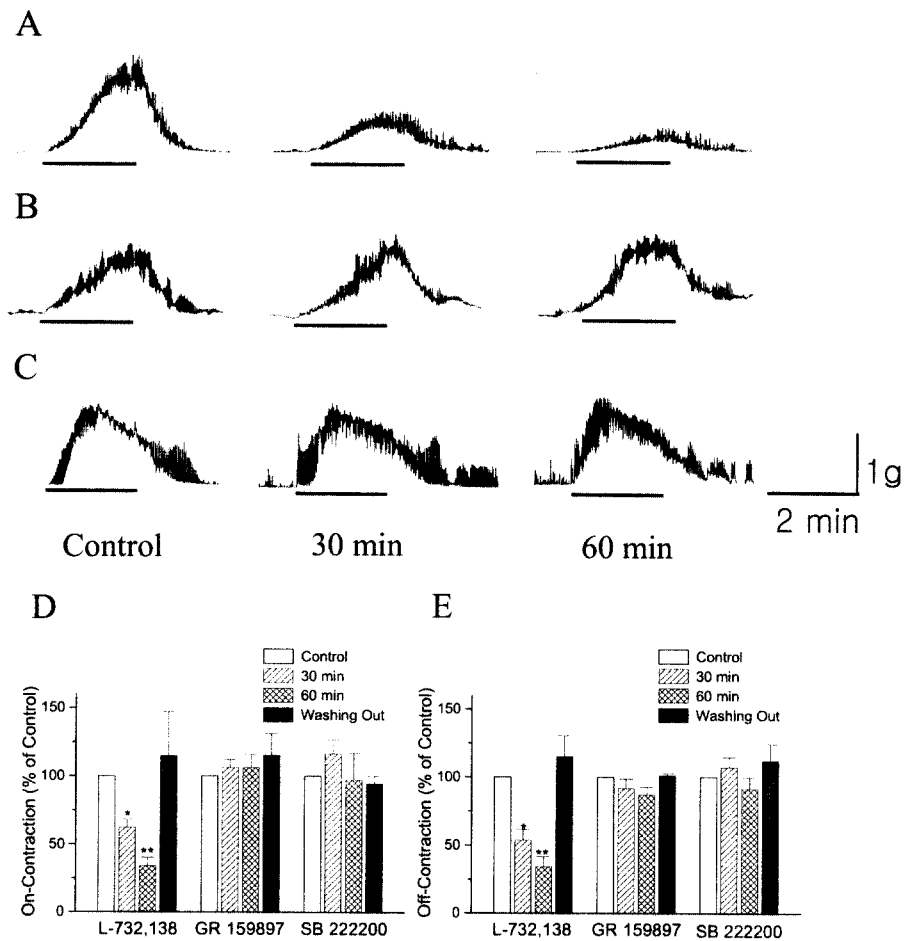


Fig. 4. Effects of NK receptor selective antagonists on the EFS-induced contraction in the NANC condition. NK₁ selective antagonist L-732,138 (10 μ M) time-dependently inhibited the contractile response of the rat ileal longitudinal muscle to EFS (5Hz)(A). However, NK₂ selective antagonist, GR 159897 (1 μ M), and NK₃ selective antagonist, SB222200, did not affect the contractile responses to EFS (5Hz) (B, C). D and E are statistical graphs showing the effects of NK receptor selective antagonists on the EFS-induced contraction. Bar indicates the application of EFS (n=5). * p<0.05, **P<0.01 as compared with control.

한편, NK₁의 선택적인 효현제로 알려진 [Sar⁹Met(O₂)¹¹]-SP (1 μM)은 랫드 회장 중주근에서 긴장성 수축과 위상성 수축을 모두 유발하여 전장자극에 의한 수축과 상당히 유사한 반응을 유발하였다. 그리고 [Sar⁹Met(O₂)¹¹]-SP에 의한 반응은 NK₁의 길항제인 L-732,138 (10 μM)에 의해 억제되었다. NK₂의 선택적 효현제인 [β-Ala⁸]-NKA (4-10) (1 μM) 역시 랫드 회장 중주근에 대해 긴장성 수축과 위상성 수축을 모두 증가시켰으며, 이러한 반응은 NK₂의 선택적 길항제인 GR 159897 (1 μM)에 의해 거의 차단되었다. 한편 NK₃의 효현제로 알려진 senktide (1 μM)는 랫드 회장 중주근에 대해 별다른 영향을 주지 않았다 (Fig. 5).

NK 매개성 수축반응에 대한 nifedipine의 영향

L-type Ca²⁺ 통로의 길항제인 nifedipine (1 μM)을 10 분간 전처리 한후 전장자극을 가하였을 때 전장자극에 의한 수축반응은 일어나지 않았다. 그리고 NK₁과 NK₂의 효현제인 [Sar⁹Met(O₂)¹¹]-SP (1 μM)와 [β-Ala⁸]-NKA (4-10) (1 μM)에 의한 수축 역시 nifedipine에 의해 완전히 차단되었다 (Fig. 6).

고 찰

본 실험에서 발견한 가장 중요한 것은 랫드 회장 중

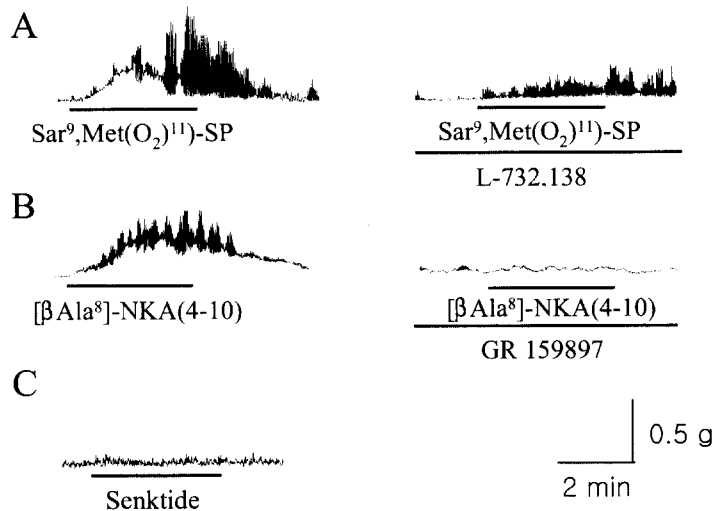


Fig. 5. Effects of NK receptor selective antagonists on the NK receptor selective agonists-induced contraction in the NANC condition. NK₁ selective agonist [Sar⁹Met(O₂)¹¹]-SP (1 μM) evoked the tonic and phasic contraction in the rat ileal longitudinal muscle. However effect of [Sar⁹Met(O₂)¹¹]-SP was almost blocked by NK₁ selective antagonist L-732,138 (10 μM) (A). NK₂ selective agonist [βAla⁸]-NKA (4-10) (1 μM) induced the tonic and phasic contraction in the rat ileal longitudinal muscle, which was blocked by NK₂ selective antagonist, GR 159897 (1 μM) (B). On the other hand, NK₃ selective agonist, senktide (1 μM), did not any affect on the motility of the strip.

주근은 NK₁과 NK₂ 수용체를 모두 갖고 있어 외인성의 tachykinin에 대해서 반응하지만, 비아드레날린 비콜린성 신경의 활성화에 의한 수축에는 NK₁이 주로 관여한다는 것이다.

랫드 회장 중주근은 guanethidine과 L-NNA가 있는 조건에서 2분간의 전장자극에 의해 초기 수축반응을 보인 후 서서히 긴장성 수축이 증가하면서 아울러 위상성 수축도 증가되는 양상을 보였다. 그러나 atropine에 의해 초기 수축반응은 거의 완전히 차단되는 것으로 보아 이러한 초기 수축반응은 아세틸콜린에 의한 것으로 생각된다. 그리고 atropine 이 전처리된 상태에서 전장자극을 가할 경우 수 초에서 수십 초에 이르는 시간동안의 잠복기가 지난 후 긴장성 수축과 위상성 수축이 동시에 증가되는 양상을 보였다. 이러한 반응은 기니피그 결장 운상근에서 보고된 반응과는 다르다 [8, 10]. 기니피그 운상근에서는 비아드레날린 비콜린 조건에서도 전장자극의 개시와 거의 동시에 초기 수축반응이 나타났으며, 이후에 자극이 지속되는 동안 일정한 긴장성 수축이 유지되는 고원기가 존재하였으며, 전장자극이 끝남과 동시에 이러한 긴장성 수축이 현저히 감소되었으나, 자극이 끝난 후에도 상당기간 동안 긴장성 수축이 유지되었다. 그러나 전장 자극이 가해지는 동안이나 자극이 끝난 후에도 위상성 수축이 증가하는 반응은 보이지 않았다 [8].

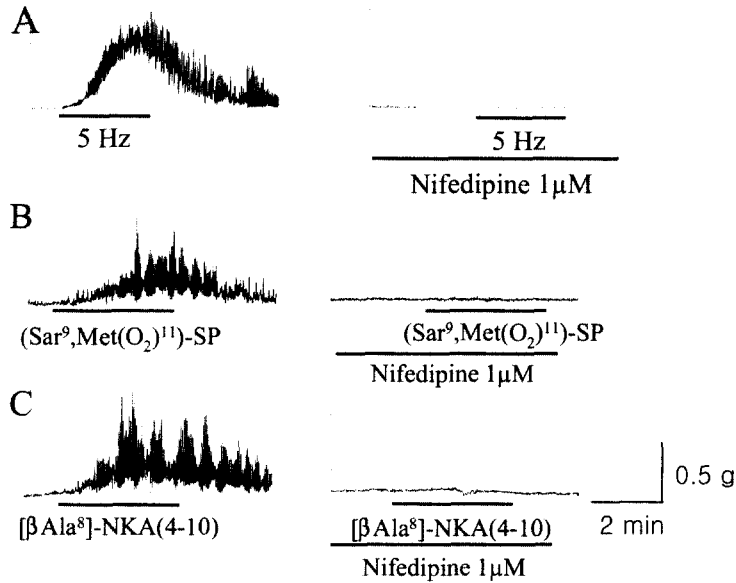


Fig. 6. Effects of nifedipine on the NANC contraction produced by EFS, NK_1 and NK_2 selective agonists. Nifedipine ($1 \mu M$) blocked the EFS (5Hz)-induced NANC contraction of the rat ileal longitudinal muscle (A). Effect of NK_1 selective agonist $[(Sar)^9, Met(O_2)^{11}]$ -SP ($1 \mu M$) and effect of NK_2 selective antagonist, GR 159897 ($1 \mu M$) were blocked by nifedipine ($1 \mu M$) (B, C).

또한, 기니피그 결장 윤상근에서 전장자극에 의한 초기 수축반응은 atropine에 의해 그 크기는 감소되었으나 차단하지는 못하였고, atropine과 NK_1 의 선택적 길항제를 동시에 전처치 하였을 경우에 전장자극에 의해 천천히 긴장성 수축이 증가하였다 [10].

비아드레날린 비콜린성 환경에서 랫드 회장 중주근은 전장자극 동안에 긴장성 수축과 위상성 수축이 증가되는 on-contraction과 전장자극이 종료된 후 이러한 수축이 일정시간 유지되는 off-contraction을 나타내었다. 이때 on-contraction은 물론 off-contraction까지도 NK_1 선택적 길항제에 의해 유의성 있게 감소되었으나, NK_2 와 NK_3 선택적 길항제에 의해서는 별다른 영향을 받지 않았다. 이것은 랫드 회장 중주근에서 비아드레날린 비콜린성 신경에 의한 on-contraction과 off-contraction이 모두 NK_1 의 활성화에 의해서 일어난다는 것을 의미한다.

기니피그 결장 윤상근은 NK_1 의 선택적 길항제에 의해서 전장 자극 중의 긴장성 수축이 현저하게 감소되었으나 수축반응을 완전히 차단하지는 못했다. 한편, NK_2 선택적 길항제 역시 전장자극에 의한 수축을 억제하였으나 초기수축보다는 고원기 수축에 대해 현저한 효과를 나타내었다. 또한 전장자극 후의 긴장성 수축은 NK_2 선택적 길항제에 의해 완전히 차단되었다. 그리고 두

종류의 선택적 길항제를 동시에 투여할 경우 비아드레날린 비콜린성 수축을 차단하였다. 따라서 이 조직에서는 전장자극에 의한 수축에 NK_1 과 NK_2 이 함께 관여한다고 보고되었으며 [8], 이후 전장자극에 의해 SP와 NKA가 순서대로 유리된다고 추정되었다 [10]. 랫드 십이지장 중주근은 전장자극에 의해 자극빈도 의존적으로 수축반응을 나타내며, 이때 초기 이완 반응 후 수축반응이 일어나며 고원기에서는 위상성 수축이 증가되나, 자극이 끝난 후에는 위상성 수축과 긴장성 수축이 바로 자극 전의 크기로 돌아가 off-contraction의 아주 미미한 수준으로 나타났다 [20]. 이 조직에서 NK_2 선택적 길항제에 의해 전장자극에 의한 수축의 크기가 감소되었고, 초기 이완반응이 두드러지게 나타났으며, 자극이 지속되는 동안에 이미 수축이 작아지면서 자극전의 상태로 돌아가는 양상을 보였다 [20]. 즉 수축의 초기에 해당하는 부분과 후기에 해당하는 부분이 NK_2 선택적 길항제에 의해 사라진 것처럼 보였다. 그리고 남은 수축부분은 atropine에 의해 완전히 사라지는 것으로 보아, 전장자극에 의한 수축은 전적으로 콜린성과 NK_2 에 의한 것으로 생각된다. 한편, 마우스의 회장 윤상근은 고빈도 전장자극에 의해 이상성의 반응 즉, 초기 이완에 이어 점차적으로 운동성이 증가되는 양상을 보이는 데

반해, 유전적으로 NK₁을 제거한 마우스에서는 같은 전장자극에 의해 오직 이완만을 나타냈다고 보고 되었다. 또한 대조군 마우스 회장 윤상근은 SP와 NKA에 의해 모두 수축이 일어나지만, NK₁을 제거한 마우스에서는 NKA에 의해서만 수축이 일어났다고 보고되었다 [15]. 이에 저자들은 마우스 회장 윤상근에는 NK₁과 NK₂가 모두 존재하여 외인성의 tachykinin에는 반응하지만 전장자극에 의한 수축에는 NK₁이 주로 관여하는 것으로 추정하였다.

전장자극 후에 나타나는 수축인 off-contraction 또는 반동성 수축 (rebound contraction)에 NK 수용체가 관여한다는 것은 기니피그 회장 윤상근 [19]과 사람의 결장 윤상근 [3]에서 보고되었다. 그런데, 이 두 조직에서 나타나는 off-contraction 모두 NK₂ 선택적 길항제에 의해서는 억제되었으나, NK₁ 선택적 길항제에 의해서는 영향을 받지 않았다. 따라서 이 두 조직에서 나타나는 off-contraction에는 모두 NK₂가 관여하는 것으로 추정되었다.

본 실험에서 랫드 회장 종주근은 NK₁ 선택적 효현제인 [Sar⁹Met(O₂)¹¹]-SP와 NK₂ 선택적 효현제인 [β -Ala⁸]-Neurokinin A (4-10) 투여시 긴장성 수축과 위상성 수축이 서서히 증가하는 양상을 보였다. 그리고 이들에 의한 반응은 NK₁ 선택적 길항제인 L-732,138과 NK₂ 선택적 길항제인 GR 159897에 의해 각각 억제되었다. 그러나 NK₃ 선택적 효현제인 senktide는 수축을 유발하지 못하였다. 이러한 결과는 랫드 회장 종주근에 NK₁과 NK₂는 존재하나 NK₃는 존재하지 않는다는 것을 의미한다. NK₁과 NK₂에 의 선택적 효현제에 의해 위상성 수축과 긴장성 수축이 함께 증가된다는 것은 이전의 랫드 회장 종주근 [22]에서의 보고와 일치하며, 사람 회장 윤상근 [24]과 기니피그 십이지장 윤상근 [23], 랫드 근위결장 윤상근 [16]에서도 같은 반응이 보고되었다. 한편, 기니피그 회장 종주근은 atropine이 존재할 경우 NK₁ 선택적 효현제에 의해 긴장성 수축만 나타내었고, NK₂ 선택적 효현제에 의해서는 위상성 수축만 나타내었다 [21]. 이것은 기니피그 회장 종주근에는 NK₁과 NK₂가 모두 존재하나, 두 수용체는 서로 다른 세포내 신호전달 경로를 활성화시킨다는 것을 암시한다. 사람의 경우 부위에 따라 다른 반응이 보고되었다. 사람의 회장 윤상근과 종주근 모두 내인성 tachykinin인 SP와 NKA에 의해 위상성 수축과 긴장성 수축이 함께 증가하였고, 결장의 윤상근과 종주근은 SP와 NKA에 의해 주로 긴장성 수축만 나타냈다 [1]. 이러한 결과들은 위장관 평활근 세포에 NK₁과 NK₂가 모두 존재할지라도 종과 부위에 따라 다른 반응을 유발할 수 있다는 것을 나타낸다.

랫드 회장 종주근은 비아드레날린 비콜린성 환경에서 NK₃ 선택적 효현제인 senktide에 의해 아무런 반응을 나타내지 않았다. 이는 기니피그 회장 종주근에서의 보고와 일치한다 [12]. 한편, 랫드 소장에서 분리한 단일 평활근 세포는 각 NK 수용체 선택적 효현제들에 의해 수축이 일어나고 세포내 Ca²⁺ 농도를 증가시키는 것으로 보아 평활근 세포에는 NK₁, NK₂, NK₃ 수용체가 모두 존재한다고 제안되었다 [5]. 그러나 면역염색법으로 조사한 바에 의하면 랫드 위장관에서 NK₃는 평활근 세포에는 존재하지 않고 오직 신경세포에만 분포하는 것으로 보고되었다 [11]. 본 실험의 결과로 볼 때 NK₃는 랫드 회장 종주근에 존재하지 않는 것으로 사료된다.

본 실험에서 nifedipine을 전처치 하였을 경우 전장자극에 의한 수축과 NK₁과 NK₂에 선택적인 효현제에 의한 수축이 전부 차단되었다. 이러한 결과는 기니피그 결장 윤상근에서의 반응과는 다르고 [8], 십이지장 윤상근의 반응과는 일치한다 [23]. 기니피그 결장 윤상근에서 nifedipine은 전장자극에 의한 수축의 크기와, 자극후 수축이 개시되는 속도를 크게 감소시켰으나, 여전히 전장자극에 의한 수축은 나타났다. 이러한 nifedipine 저항성 수축은 NK₂ 선택적 길항제에 의해 억제되었으나, NK₁의 선택적 길항제에 의해서는 영향을 받지 않았다. 또한 nifedipine은 NKA에 의한 수축을 억제하지 못하였지만 SP에 의한 수축은 거의 차단하였다. 이는 기니피그 결장 윤상근에서 NK₁에 의한 수축은 세포막을 통한 Ca²⁺의 유입이 중요한 역할을 하고, NK₂에 의한 수축은 세포내 저장소로부터의 Ca²⁺의 유리가 상당히 중요하다는 것을 의미한다 [8]. 한편 기니피그 십이지장 윤상근에서는 nifedipine이 전장자극과 NK₁ 선택적 효현제 그리고 NK₂ 선택적 효현제에 의한 수축을 모두 차단하였다 [23]. 따라서 랫드 회장 종주근은 기니피그 십이지장 윤상근과 마찬가지로 NK₁과 NK₂에 의한 수축이 모두 세포밖 의 세포내 유입이 중요한 역할을 한다는 것을 의미하며, nifedipine으로는 NK₁과 NK₂에 의한 수축을 구별할 수 없었다.

결 론

랫드 회장 종주근은 외인성의 NK₁, NK₂ 선택적 효현제들에 의해 긴장성 수축과 위상성 수축이 나타나는 것으로 보아 NK₁, NK₂가 모두 존재하는 것으로 생각되나 비아드레날린 비콜린성 신경에 의한 수축에는 NK₁이 주로 관여하는 것으로 사료된다. 한편, NK₃ 선택적 효현제는 비아드레날린 비콜린 환경에서 랫드 회장 종주근에 별다른 영향을 주지 않는 것으로 보아 랫드 회장

종주근 평활근 세포에는 NK₃가 존재하지 않을 것으로 생각된다.

참고문헌

1. Al Saffar, A. and Hellstrom, P. M. Contractile responses to natural tachykinins and selective tachykinin analogs in normal and inflamed ileal and colonic muscle. *Scand. J. Gastroenterol.* 2001, **36**(5), 485-493.
2. Beresford, I. J., Sheldrick, R. L., Ball, D. I., Turpin, M. P., Walsh, D. M., Hawcock, A. B., Coleman, R. A., Hagan, R. M. and Tyers, M. B. GR159897, a potent non-peptide antagonist at tachykinin NK₂ receptors. *Eur. J. Pharmacol.* 1995, **272**(2-3), 241-248.
3. Cao, W., Pricolo, V. E., Zhang, L., Behar, J., Biancani, P. and Kirber, M. T. Gq-Linked NK₂ Receptors mediate neurally induced contraction of human sigmoid circular smooth muscle. *Gastroenterol.* 2000, **119**(1), 51-61.
4. Grider, J. R. Reciprocal activity of longitudinal and circular muscle during intestinal peristaltic reflex. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 2003, **284**(5), 768-775.
5. Hellstrom, P. M., Murthy, K. S., Grider, J. R. and Makhlouf, G. M. Coexistence of three tachykinin receptors coupled to Ca⁺⁺ signaling pathways in intestinal muscle cells. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1994, **270**(1), 236-243.
6. Holzer, P. and Holzer-Petsche, U. Tachykinins in the gut. Part I. Expression, release and motor function. *Pharmacol. Ther.* 1997, **73**(3), 173-217.
7. Kojima, S. and Shimo, Y. Calcitonin gene-related peptide (CGRP)-enhanced non-adrenergic non-cholinergic contraction of guinea-pig proximal colon. *Br. J. Pharmacol.* 1995, **115**(7), 1290-1294.
8. Maggi, C. A., Zagorodnyuk, V. and Giuliani, S. Specialization of tachykinin NK₁ and NK₂ receptors in producing fast and slow atropine-resistant neurotransmission to the circular muscle of the guinea-pig colon. *Neurosci.* 1994, **63**(4), 1137-1152.
9. Maggi, C. A. and Giuliani, S. Role of tachykinins as excitatory mediators of NANC contraction in the circular muscle of rat small intestine. *J. Auton. Pharmacol.* 1995, **15**(5), 335-350.
10. Maggi, C. A., Giuliani, S. and Zagorodnyuk, V. Sequential activation of the triple excitatory transmission to the circular muscle of guinea-pig colon. *Neurosci.* 1997, **79**(1), 263-274.
11. Mann, P. T., Southwell, B. R., Ding, Y. Q., Shigemoto, R., Mizuno, N. and Furness, J. B. Localisation of neurokinin 3 (NK₃) receptor immunoreactivity in the rat gastrointestinal tract. *Cell Tissue Res.* 1997, **289**(1), 1-9.
12. Nguyen, L., Nguyen, Q. T., Gobeil, F., Jukic, D., Chretien, L. and Regoli, D. Neurokinin receptors in the guinea pig ileum. *Pharmacol.* 1996, **52**(1), 35-45.
13. Onori, L., Aggio, A., Taddei, G., Ciccocioppo, R., Severi, C., Carnicelli, V. and Tonini, M. Contribution of NK₃ tachykinin receptors to propulsion in the rabbit isolated distal colon. *Neurogastroenterol. Motil.* 2001, **13**(3), 211-219.
14. Pedersen, K. E., Buckner, C. K., Meeker, S. N. and Udem, B. J. Pharmacological examination of the neurokinin-1 receptor mediating relaxation of human intralobar pulmonary artery. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2000, **292**(1), 319-325.
15. Saban, R., Nguyen, N., Saban, M. R., Gerard, N. P. and Pasricha, P. J. Nerve-mediated motility of ileal segments isolated from NK₁ receptor knockout mice. *Am. J. Physiol.* 1999, **277**(61), 1173-1179.
16. Serio, R., Mule, F., Bonvissuto, F. and Postorino, A. Tachykinins mediate noncholinergic excitatory neural responses in the circular muscle of rat proximal colon. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 1998, **76**(6), 684-689.
17. Severini, C., Improta, G., Falconieri-Erspamer, G., Salvadori, S. and Erspamer, V. The tachykinin peptide family. *Pharmacol. Rev.* 2002, **54**(2), 285-322.
18. Smith, T. K. and Robertson, W. J. Synchronous movements of the longitudinal and circular muscle during peristalsis in the isolated guinea-pig distal colon. *J. Physiol.* 1998, **506**(2), 563-577.
19. Suzuki, N., Mizuno, K. and Gomi, Y. Neurogenic "off" contractions are mediated by NK₂-receptors in the circular muscle of guinea pig ileum. *Jpn. J. Pharmacol.* 1994, **64**(3), 213-216.
20. Tolessa, T., Lordal, M. and Hellstrom, P. M. Contractile responses of rat duodenum caused by transmural nerve stimulation: interaction between

- tachykininergic and cholinergic mechanisms. *Acta Physiol. Scand.* 1996, **158**(2), 135-142.
21. **Vilain, P., Emonds-Alt, X., Le Fur, G. and Breliere, J. C.** Tachykinin-induced contractions of the guinea pig ileum longitudinal smooth muscle: tonic and phasic muscular activities. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 1997, **75**(6), 587-590.
22. **Willis, S., Allescher, H. D., Schusdziarra, V., Regoli, D., Drapeau, G. and Classen, M.** Differential effects of selective neurokinin agonists on phasic and tonic activity in rat ileal longitudinal muscle. *Neuropept.* 1993, **25**(5), 315-323.
23. **Zagorodnyuk, V., Santicioli, P., Maggi, C. A. and Giachetti, A.** Evidence that tachykinin NK1 and NK2 receptors mediate non-adrenergic non-cholinergic excitation and contraction in the circular muscle of guinea-pig duodenum. *Br. J. Pharmacol.* 1995, **115**(2), 237-246.
24. **Zagorodnyuk, V., Santicioli, P., Turini, D. and Maggi, C. A.** Tachykinin NK1 and NK2 receptors mediate non-adrenergic non-cholinergic excitatory neuromuscular transmission in the human ileum. *Neuropept.* 1997, **31**(3), 265-271.