

Guinea pig 尿管 平滑筋 收縮 및 弛緩의 年齡에 따른 變動

釜山大學校 醫科大學 藥理學教室

林 炳 用 · 洪 起 煥

Abstract=

Age-dependent Changes in Contraction and Relaxation of Ureteral Smooth Muscle in Guinea pig

Byung Yong Rhim, M.D. and Ki Whan Hong, M.D.

Department of Pharmacology, College of Medicine, Busan National University, Busan 600, Korea

1) The authors studied the effect of increasing age on the contraction and relaxation mechanism in the ureteral smooth muscle of the guinea pig.

2) Two to three week old, three month old, and two to three year old guinea pig ureters were used and the consistent amplitude of contractile responses were induced by using train stimulation.

3) After mounting the specimens in Tyrode's solution containing 2.6mM Ca⁺⁺, the ureter was stimulated, of which amplitude was initial contraction and next continuously superfused with Ca⁺⁺-free Tyrod's solution. When the contractile response stopped by electrical field stimulation, the muscle specimens was superfused with Tyrode's solution 0.25mM Ca⁺⁺ for 15min and stimulated with the same parameters. Thereafter, the contraction of Ca⁺⁺ in the solution was increased step by step up to 2.7mM.

4) The ureters of 2-3 week old guinea pigs needed less Ca⁺⁺ for the recovery of contractile response than those of three month and two to three year old did. In 2.7mM Ca⁺⁺, the ureters of 2-3 week and 3 month old guinea pigs recovered the contractile response of over 90% but those of 2-3 year old recovered the contractility of 77.2%.

5) Isoproterenol inhibited in dose dependent manner from 10⁻⁷ to 10⁻⁵ M ureteral contractility of both 2-3 week and 2-3 year old guinea pigs. The inhibition of the old ureter by isoproterenol was significantly less (P<0.025) than that of the younger ureter. However theophylline showed the strong inhibition independent of the function of age.

6) Dibutyryl cyclic AMP showed dose-dependent inhibition of the contraction of ureters of 2-3 week old guinea pigs but there was shown no inhibition in the old ureters. Further, the content of endogenous cyclic AMP in the two week old ureter was higher by 73% than that of 17 month old ureter. Cyclic GMP contents was not much different between two groups.

7) The ureteral smooth muscle of the younger guinea pig had more efficiency than that of the older animals in the mobilization and storage of calcium which concerned itself in the contraction and relaxation mechanism.

結 論

Akimoto, et al. (1977)은 14日된 幼兔와 成熟 家兔의 적출尿管을 結찰에 의하여 閉鎖하고 불로서 壓力을 加하였을 때 이에 反應하여 幼兔 尿管은 成兔 것에서 보다 더 擴張되어 幼兔 平滑筋이 compliance가 더 높은 것을 確認하고, 이때 norepinephrine을 加하면 幼兔의 尿管은 藥物反應으로 擴張이 減少되나 成兔의 것은 效果가 없었다고 하였다. 한편 흰쥐의 心筋에서는 年齡의 增加에 의하여 藥物에 對한 收縮反應(inotropic response)은 減少(Lakatta et al., 1974)한다고 하였다.

血管에 있어서는 Cohen 및 Berkowitz(1974) 등이 흰쥐의 大動脈 標本에 여러 收縮性 物質을 投與時 오히려 어린 쥐의 標本보다 늙은 쥐의 標本에서 最大收縮이 增加함에 따라 오히려 弛緩效果는 減少하였다고 하였으며 이러한 事實들은 近者에 와서 年齡과 관련하여 상당히 研究되고 있는 바이다. 한편 Endo, et al. (1970), Ford 및 Podolsky(1970) 등이 細胞膜을 벗겨낸 骨格筋(skinned skeletal muscle)에서 細胞外部의 Ca^{++} 에 의하여 sarcoplasmic reticulum(SR)의 内部 Ca^{++} 이 遊離된다는 假說이 骨格筋이나 心筋뿐만 아니라(Fabiato 및 Fabiato, 1977), guinea-pig의 結腸紐(taenia coli)나 생쥐의 直腸筋에서(Aizu 및 Bando, 1974; Cheng, 1976)도 이러한 Ca^{++} -induced Ca^{++} release가 關與하고 있다고 報告되고 있다.

著者는 平滑筋 收縮 및 弛緩反應이 年齡에 의하여 影響을 받는 點에 興味를 느껴 이 論文에서는 Ca^{++} -free Tyrode液에서 Ca^{++} 을 서서히 增加시킴으로서 일어나는 收縮力의 恢復이 年齡에 따라 어떻게 影響을 받는가를 觀察하고, 나아가서 theophylline, isoproterenol(ISP) 및 dibutyryl cyclic AMP의 作用을 年齡에 따라 比較하고 尿管筋內 內因性 cyclic nucleotide의 含量을 測定하여 이들 성적을 검토하였다.

實 驗 方 法

實驗動物은 2-3週, 3個月 및 2-3年된 guinea-pg을 使用하였고 이들의 平均體重은 各各 200~300g, 500g 및 860g이었다. 動物은 夜간 禁食을 일으켜 出血死시킨 다음 開腹하여 尿管을 露出시키고, in vivo 下에서 검은 실로서 그 走行을 추적한 後 in vivo 길이를 測定하였다. 使用된 검은 실을 Tyrode液이 담긴 wax block에서 실제 길이로 잘라 절단 後 尿管 인접 部位에 핀을 꽂고 固定하였다. 各尿管標本을 3等分하고 그 中 遠位 部의 2等分을 使用하였다. 이를 소형 金環에

끼워서 二重(u字型)으로 하여 그 길이는 대개 2.5~3.0 cm가 되게 하였다. 摘出した 結腸은 20ml muscle chamber內에 현수하고 4ml/min의 速度로 酸素를 포화시킨 Tyrode液으로 관류였다. Tyrode液은 NaCl, 137; $NaHCO_3$, 12; NaH_2PO_4 , 1.8; KCl, 2.7; $CaCl_2$, 2.7; Glucose, 5.5 및 $MgCl_2$, 0.5mM의 組成을 가졌으며 이 溶液을 5% CO_2 가 包含된 95% O_2 公氣하에 pH 7.2, 37°C로 유지시켰다.

二重으로 된 尿管의 한쪽 끝은 chamber 內 바닥에 固定되어 있는 白金線 고리에 매달고 다른 한쪽 끝은 白金線 고리를 통해 Statham UC-2 force transducer에 연결하였는데 transducer는 0.1mm 以內의 精密度를 가지고 있는 Venier scale의 나선형 기아에 연결하였다.

組織을 현수하고 2.7mM Ca^{++} 이 含有된 Tyrode液에서 60分間 방치하여 equilibrate시키고 난 뒤 連連 刺戟(train stimulation)을 加하여 一定한 收縮高를 얻었다. 後 Ca^{++} -free Tyrode液으로 10-20分間 灌流시킨 다음 電氣 刺戟에 對한 縮反應이 消失됨을 確認하였다. 이때부터 0.25mM Ca^{++} 이 含有된 Tyrode液으로 15分間 灌流하고 同一한 parameters의 連連 刺戟을 加하여 나타나는 收縮高中 2번째의 收縮高를 測定하였다. 같은 方法으로 0.5, 0.8, 1.0, 1.2, 1.5, 2.0, 및 2.7mM 濃度의 Ca^{++} 이 含有된 Tyrode液으로 차례로 灌流하면서 同一한 操作을 繼續하였다.

이와 같은 方法으로 얻은 收縮高를 2.7mM Ca^{++} Tyrode液에서 얻은 收縮高의 百分率로 바꾸었다. 그리고 처음 收縮高의 50 및 75%의 收縮을 일으키는 데 必要한 Ca^{++} 量 即 ED_{50} 및 ED_{75} 를 求하였다. 또한 藥物反應은 처음 收縮高의 百分率로 나타내었다.

이 實驗에 使用된 electrical field stimulation의 parameters는 Grass stimulator(Model S48)을 使用하여 2msec pulse duration, 40PPS(40 volts)로 每 25초마다 0.5초간 자극하였으며 이때 500mg의 resting tension하에서 실험을 행하였다.

Cyclic nucleotides의 測定은 다음과 같다.

2주의 연령을 가진 기니픽의 一側尿管표본의 평균중량(wet weight)은 23.2mg이고 17개월된 기니픽의 尿管은 51.6mg으로서 한번 실험에 소요되는 기니픽의 尿管개수는 2주의 것은 40개, 17개월 것은 20개였다.

組織을 적출한 뒤 즉시 liquid nitrogen에 담구면서 일정량의 표본을 모아서는 5% TCA를 加하고 polytron으로 10초간 homogenate를 작성하였다. 그리고는 ether를 가지고 5회간 TCA를 세척하고 나서 lyophilize 시켰다.

Cyclic AMP는 Amersham's assay kit(dode TRK,

432)를 사용하여 competitive protein-binding assay (Gilman, 1970)法으로 측정하였다. Cyclic GMP도 Amersham's RIA kit(Code TRK, 500)를 사용하여 cyclic AMP와 類似한 方法으로 시행하였다.

이 實驗에 使用된 藥物 : Isoproterenol(Sigma)은 0.1% sodium bisulfite에 희석하여 原液을 作成하고 이를 生理食鹽水에 희석하여 使用하였다. 그리고 theophylline anhydrous(Sigma)는 使用할 때마다 生理食鹽水에 희석하여 신선한 것을 使用하였다. Dibutyryl cyclic AMP(Sigma)은 사용시 생리적 식염수에 용해시켜서 사용하였다.

모든 測定値는 student t-test로서 統計處理하였다.

實驗 結果

1. Ca⁺⁺利用에 對한 年齡에 따른 變動

豫備 實驗에서 摘出 尿管을 2.7mM Ca⁺⁺ Tyroid液 內에서 field stimulation하였을 때 2msec pulse duration 40PPS에 의하여 收縮高가 最大가 됨을 確認하였고 train rate를 調節함으로써 Ca⁺⁺ 및 藥物 反應의 感受성이 變動하였으나 train rate 0.04TPS(train per sec) 即 每 25 初마다 電氣刺戟을 加하고 train duration을 0.5初間하였을 때 가장 理想的인 收縮高를 確認하였다. 各 年齡에서의 尿管을 Ca⁺⁺-free Tyrode液으로 灌流하고 每 5分 간격으로 2-3回의 電氣 刺戟을 加하여 收縮高의 減少 및 消失을 確認하였다. 이러한 方法으로 行하였을 때 정도의 差異는 있으나 대부분의 標本은 10-20分에 電氣 刺戟에 對한 反應이 消失되었다. 이를 確認한 후 0.25mM Ca⁺⁺이 含有된 Tyrode液으로 灌流를 始作하여 15分이 지난 後 同一한 parameters의 電氣 刺戟을 3-4回 加하고 다시 0.5, 0.8, 1.0, 1.2, 1.5, 2.0 및 2.7mM의 Ca⁺⁺이 含有된 Tyrode液으로 灌流하여 前과 同一한 實驗을 繼續하였다.

그 成績은 Table 1 및 Fig. 1에서 보는 바와 같다. 2-3週 尿管은 3個月 및 2-3年 尿管에 比하여 훨씬 낮은 濃度의 Ca⁺⁺에 依하여서도 收縮力의 恢復이 迅速하였고, 3個月 및 2-3年 尿管에 있어서는 그 樣相이 거의 類似하였다. 即 2-3週 尿管에 있어서는 0.5 및 0.8mM Ca⁺⁺에 依하여 38.0±6.3 및 71.4±3.1%의 收縮高를 恢復하였으나 3個月 尿管에 있어서는 이 濃度 Ca⁺⁺에 依하여 17.7±5.8, 38.4±10.5%의 느린 恢復을 보였고, 이는 2-3年 尿管에서도 거의 類似하였다. 또한 2.7mM Ca⁺⁺을 다시 加하였을 때는 收縮高의 恢復이 年齡이 增加됨에 따라 훨씬 減弱되었다. 即 2-3週 및 3個月 尿管에 있어서는 96.1±5.1 및 90.0

Table 1. Age-dependent differences in the recovery of contractility in the Ca⁺⁺-Tyrode solution after the contraction after the contraction was abolished by immersing the guinea-pig ureter in Ca⁺⁺-free Tyrode solution

Ages Conc. of Ca ⁺⁺ (mM)	% of Initial Contraction Mean±S. E.		
	2-3 Weeks n=9	3 Months n=9	2-3 Years n=8
0	0	0	0
0.25	5.6±0.1	1.2±1.2	3.2±2.1
0.5	38.0±6.3	17.7±5.8	16.6±5.3
0.8	71.4±3.1	38.4±10.5	39.4±7.8
1.0	84.1±3.2	67.5±9.0	56.7±5.8
1.2	89.5±3.2	84.4±5.7	67.2±4.4
1.5	91.5±3.9	84.6±6.3	67.3±3.8
2.0	93.8±4.1	87.2±6.1	74.4±4.2
2.7	96.1±5.1	90.0±4.1	77.2±4.9

Contraction was induced by electrical field stimulation with the parameters of 2 msec duration, 40 pulse per second for 0.5 second.

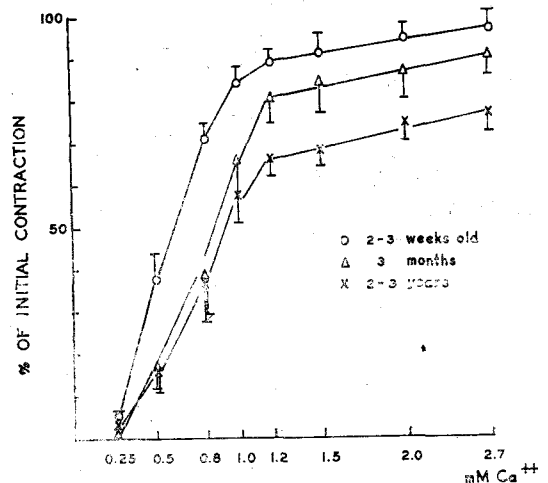


Fig. 1. Age-dependent differences in the recovery Ca⁺⁺-Tyroid's' solution.

±4.1%의 恢復을 보였으나 2-3年 尿管에 있어서는 훨씬 鈍하여 77.2±4.9%만 恢復하였다.

나아가서 3個月 및 2-3年 尿管에 있어서 처음 收縮高의 50 및 75%가 恢復하는데 必要한 Ca⁺⁺值, 即 ED₅₀ 및 ED₇₅를 計算하면 Table 2에서 보는 바와 같다. 2-3週 尿管에서 ED₅₀는 0.58mM Ca⁺⁺이고 3個月 및 2-3年 尿管에서는 0.88 및 0.92mM Ca⁺⁺으로서 2-3

週尿管에서는 3個月 및 2-3年尿管에 比하여 50% 收縮을 일으키는데 必要한 Ca^{++} 値가 統計學的으로 유의하게 낮았고 ($P < 0.05$), 3個月 및 2-3年尿管 사이에는 統計學的有意 差는 없었다. ED_{75} 에 있어서는 2-3週 및 3個月尿管은 有意한 差異가 없었고 이 兩群은 2-3年尿管에 比하여 越等히 낮은 Ca^{++} 濃度에 依하여 收縮高의 恢復을 야기하였다 ($P < 0.01$).

以上の 成績으로 보아 2-3週尿管에서는 낮은 Ca^{++} 濃度에 依하여서도 充分한 收縮力을 회복하고 2.7mM Ca^{++} 下에서는 거의 처음 收縮高를 회복하나 2-3年尿管에서는 Ca^{++} 의 利用率이 낮을 뿐 아니라 회복이 극히 鈍化되었다. 그러나 3個月尿管에 있어서는 低濃度 Ca^{++} 利用率은 낮으나 高濃度 Ca^{++} 에 있어서 收縮高의 恢復은 거의 完全하였다.

2. 年齡에 따른 弛緩藥物的 作用的 差異

Table 2. Calculation of ED_{50} and ED_{75} for Ca^{++} concentration needed inducing the contractility by 50 and 75 percents of guinea-pig ureter

Age	Ca^{++} , mM (Mean)		
	2-3 Weeks	3 Months	2-3 Years
ED_{50}	0.58 ^{a, b}	0.88 ^c	0.92
ED_{75}	0.86 ^d	1.09 ^d	2.15

- a, Statistically different between 2-3 weeks and 3 months ($P < 0.05$).
- b, Statistically different between 2-3 weeks and 2-3 years.
- c, No significance between 3 months and 2-3 years.
- d, Statistically significant when compared with 2-3 years ($P < 0.01$).

Table 3. Age-dependent differences in the action of isoproterenol on the guinea pig ureter.

Drug Conc. (M)	% of Inhibition (Mean \pm S. E.)	
	2-3 Weeks (N=8)	2-3 Years (N=13)
10^{-7}	21.8 \pm 6.0	10.5 \pm 3.1
10^{-6}	47.5 \pm 7.4**	24.8 \pm 4.3
10^{-5}	55.4 \pm 5.4**	37.2 \pm 4.4
10^{-4}	19.6 \pm 14.6	31.6 \pm 4.7

** $P < 0.025$

The Tyode's solution contained 5×10^{-7} M atropine and 10μ M theophylline.

N: Number of experiments

Table 4. Inhibitory action of theophylline on both age-groups of the guinea pig ureter

Drug Conc. (μ M)	% of Inhibition (M \pm S. E.)	
	2-3 Weeks (N=8)	2-3 Years (N=6)
10	10.5 \pm 4.3	8.8 \pm 1.0
20	18.8 \pm 5.6	19.0 \pm 2.3
50	34.7 \pm 5.1	38.6 \pm 5.1
70	45.6 \pm 4.8	48.7 \pm 6.2
100	55.5 \pm 4.9	59.0 \pm 6.7
150	69.4 \pm 5.0	70.0 \pm 6.8
200	78.0 \pm 5.1	79.2 \pm 5.2
300	85.8 \pm 4.6	88.6 \pm 3.7
500	94.4 \pm 3.8	98.0 \pm 1.0

N: Number of experiments

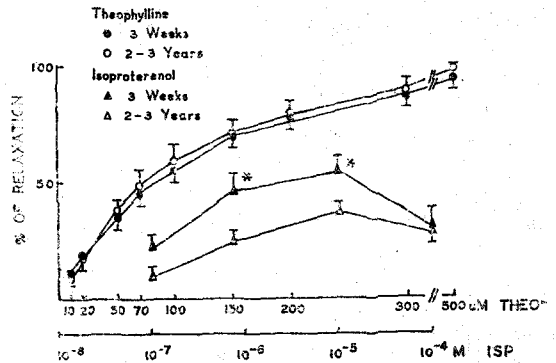


Fig. 2. Inhibitory effects of isoproterenol and theophylline on the train contraction as a function of age of the guinea pig ureter.

한편尿管平滑筋을 弛緩시키며 cyclic AMP-phosphodiesterase system과 關聯된 藥物로서 theophylline과 ISP를 使用하여 train contraction에 미치는 抑制效果가 연령에 따라 어떻게 變動하는가를 觀察하여 그 成績은 Table 3 및 4와 Fig. 2와 같다.

ISP群은 實驗營養液內에 이미 5×10^{-7} M의 atropine과 10μ M의 theophylline을 첨가하였다. ISP (10^{-7} — 10^{-5} M) 投與에 依하여 2-3週尿管이나 2-3年尿管 모두 dose-dependent 하게 抑制作用을 나타내었으나 10^{-4} M에 依하여는 弛緩效果가 減弱되었다. 그리고 그 정도의 差異에 있어서는 10^{-6} — 10^{-5} M의 ISP에 依하여서는 2-3週尿管은 2-3年尿管에 比하여 현저히 억제 효과가 강하였고 이는 統計學的으로 有意하였다.

($p < 0.025$). 即 2-3週尿管에 있어서는 10^{-6} 및 10^{-5} M ISP에 依하여 47.5 \pm 7.4 및 55.4 \pm 5.4%의 抑

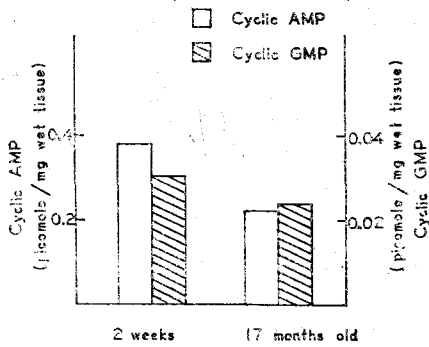


Fig. 3. The endogenous concentrations of cyclic AMP and cyclic GMP in the ureters of 2 week old and 17 month old guinea pig.

Table 5. Age-dependent difference in the action of dibutyryl cyclic AMP on the contraction of guinea-pig ureter.

Drug Conc. (M)	Ages	% of Initial Contraction/Relaxation Mean±S. E.	
		2-3 Weeks n=6	2-3 Years n=5
10^{-5}		-5.1±2.8	+2.0±2.0
10^{-4}		-58.2±11.9	+7.5±5.3
5×10^{-4}		-67.1±9.1	+12.8±10.5

Note, (-) Relaxation, (+) Contraction increase
The contraction was induced by electrical field stimulation.

제를 나타낸데 비하여 2-3년尿管에서는 같은 농도에서 24.8±4.3 및 37.2±4.4%의 억제율을 보였다.

Theophylline($10 \sim 500 \mu\text{M}$)은 연령에 관계없이尿管收縮高를 強力히 抑制하여 $500 \mu\text{M}$ 에 있어서는 兩群 모두 90%以上 收縮高가 抑制되었다. 그리고 ID_{50} 를 求한 즉 2-3週尿管은 $\text{ID}_{50}=88.3 \mu\text{M}$ 이고 2-3년尿管은 $74.3 \mu\text{M}$ 로서 有意한 差異는 없었다.

3. Dibutyryl cyclic AMP의 効果와 內因性 Cyclic nucleotides의 含量

ISP가 특히 幼年尿管에서 收縮高의 抑制效果가 強하게 나타났으므로 이는 adenylyl cyclase 흥분으로 인한 cyclic AMP의 증가와 관련이 있을 것으로 보고 이 실험에서는 직접 dibutyryl cyclic AMP를 muscle chamber내에 투여하였다.

Table 5에서 보는 바와 같다. 2-3주尿管에 있어서는 dose-dependent하게 수축고의 억제효과가 현저하였고 2-3년尿管에 있어서는 전연 억제율을 나타내지

않았다.

그리고 2주 및 17개월된 기니피그尿管을 적출하여 組織內 含有된 cyclic AMP 및 cyclic GMP 含量을 측정하였던 바 Fig. 3과 같다. 이들은 각각 세번 측정된 평균치이다. Cyclic AMP 含量은 2주 및 17개월 기니피그尿管에서는 각각 0.038 및 0.022 picomole/mg wet tissue로서 양자간에 큰 차이는 나타나지 아니 하였다.

Cyclic AMP는 2주尿管에서는 0.38 picomole/mg wet tissue이고 17개월尿管에서는 0.22 picomole/mg wet tissue로서 前者는 後者에 비하여 73%의 높은 농도를 含有하였다.

考 案

平滑筋의 收縮에는 Ca^{++} 이 가장 重要한 電解質로서 細胞內 또는 細胞外의 Ca^{++} 이 Ca^{++} 源으로서 收縮 機轉에 利用된다고 한다. 그러나 細胞內 또는 外의 어느 分割의 Ca^{++} 이 主源이 되는지는 論難이 많다. Durbin 및 Jenkinson(1962), Edman 및 Schild(1962) 등은 細胞外部의 Ca^{++} 이 細胞內로 들어가서 收縮을 일으킨다고 하였고 Daniel(1964), Goodford(1967) 등은 plasma membrane에 bound된 Ca^{++} 이 主 Ca^{++} 源이라고 하였다. 그러나 SR(Bozler, 1969; Somlyo 및 Somlyo, 1971; Godfraind et al, 1976), mitochondria(Batra, 1975)의 Ca^{++} 이 크게 關與한다는 報告等 學者들의 觀點에 따라 論難이 많다.

Somlyo et al. (1971)과 Devine et al. (1972) 등은 Ca^{++} depletion에 對한 感受성이 各 臟器의 平滑筋에 따라 다르다고 하였으며 이와 같은 경우에 細胞外 Ca^{++} 에 대한 感受성의 差異는 筋細胞內 Ca^{++} 貯藏量의 差異에 基因한다고 하였다. 即 McGuffee 및 Bagley (1976)는 guinea-pig의 精營 및 結腸紐를 Ca^{++} -free-營養液에서 電氣刺戟할 때 前者는 後者에 비하여 越等히 長時間 機械的 反應을 持續함을 確認하고 이는 前者의 細胞內 構造物인 surface vesicle, SR 또는 mitochondria 등에 더 많은 量의 Ca^{++} 이 貯溜되어 있기 때문이라고 하였다.

이 實驗에서는 guinea-pig의尿管을 현수하고 train stimulation法으로 2.7mM Ca^{++} Tyrode 液에서 收縮高를 測定하고 液으로 處理한 다음 다시 低濃度 Ca^{++} 에서 始作하여 Ca^{++} 濃度を 增加시키면서 train stimulation할 때 收縮高의 恢復은 少量 Ca^{++} 에 의하여서도 2-3週幼年尿管에서는 2-3년尿管에 비하여 迅速하였고, Ca^{++} 濃度を 增加시켜 2.7mM Ca^{++} Tyrode 液으로 다시 處理하여도 幼年尿管에서는 처음 收縮高

의 96.1% 이상을 회복하였으나 老尿管에서는 約 77.2%만 회복하였다.

興味있는 점은 3個月尿管에서는 비록 低濃度 Ca^{++} 에서는 收縮力의 恢復은 鈍하였으나 2.7mM Ca^{++} 에서는 2-3週尿管처럼 90%이상을 회복할 수 있는 능력을 가졌었다.

이 結果에서 보는 바와 같이 幼年尿管이나 老尿管 모두 同一한 條件인 Ca^{++} -free Tyrode 液에서 收縮反應이 消失된 다음 細胞外 Ca^{++} 을 점차 增加시킬 때 幼年尿管에서는 老尿管에 比하여 有意하게 收縮反應을 회복함은 細胞外의 利用에 있어서 效率性이 높은지 아니면 細胞外에 依한 細胞內의 動員能이 더욱 活潑한 것에 基因하였을 可能性이 크다고 추측된다.

最近에 Endo et al. (1970)과 Ford 및 Podolsky (1970) 등이 骨格筋 細胞에서 細胞外 Ca^{++} 이 SR內의 Ca^{++} 遊離를 triggering 한다는 假說을 報告한 以來 平滑筋에서도 이 假說이 적용된다는 점 (Aizu 및 Bando, 1974; Cheng, 1976)을 고려할 때 幼年尿管에서는 老平滑筋에 比하여 筋弛緩時 細胞內 構造物內로 Ca^{++} influx의 효율성을 높이는 機轉 即 Ca^{++} sequestration 또는 Ca^{++} pump와 같은 機能이 活潑하여졌기 때문에 비록 Ca^{++} -free Tyrode 液에서도 상당량의 Ca^{++} 이 이미 저장되어 있다고 細胞外 Ca^{++} 의 triggering에 의하여 신속히 細胞內 Ca^{++} 이 動員되었을 것으로도 추측되나 이에 대하여는 앞으로 더욱 追究할 과제라고 생각된다.

한편 平滑筋은 心筋이나 骨格筋과 다른 점이 많으나 筋弛緩時的 Ca^{++} 운命은 骨格筋과 類似하여 앞에서 言及한 바와 같이 筋弛緩時は 細胞內 構造物에 의하여 Ca^{++} uptake가 일어난다고 한다.

Cyclic adenosine 3', 5'-monophosphate (c-AMP)는 各種 平滑筋에서 β -adrenergic agonist의 弛緩效果를 媒介하는 物質로서 알려져 있다 (Andersson et al., 1972, Andersson, 1972). β -adrenergic agonist는 plasma membrane의 外層에 있는 receptor와 結合하고 이들의 相互作用으로 다시 內層의 adenylyl cyclase의 酵素를 活性化하여 ATP가 cyclic AMP로 轉換하고 이 物質은 다시 細胞內 protein kinase의 活性能을 增加시키고 SR의 外層에서 phosphorylation을 觸媒하여 弛緩을 일으킨다고 한다 (Tada et al., 1975).

이런 점에서 phosphodiesterase inhibitor인 theophylline과 adrenergic β -receptor agonist인 ISP를 使用하였다. Theophylline은尿管 收縮高를 強力히 抑制하였고 그 程度에 있어서는 幼年 및 老尿管 平滑筋에서 아무런 差異를 찾아 볼 수 없었다.

그리고 ISP는 兩群에서 모두 收縮高를 抑制하였으나

2-3년 老尿管에서는 2-3週 幼年尿管에 比하여 越等히 그 效果가 弱하였다.

Weiss et al. (1977)은 家兔尿管에서 ISP 및 theophylline의 作用을 觀察하였던 바 前者는 adenylyl cyclase 活性能을 增加시키고 後者は phosphodiesterase를 현저히 抑制시키는 點으로 보아尿管 平滑筋의 弛緩時에도 cyclase-phosphodiesterase system이 크게 關與한 것이라고 하였다. 이는 본 실험에서 본 ISP 및 theophylline의 작용기전을 더욱 확실히 說明해 주는 것으로 간주된다.

Ericsson (1973) 및 Ericsson & Lundholm (1975)은 1個月된 어린 흰쥐 大動脈에서 볼 수 있는 β -adrenoreceptor에 의한 弛緩反應은 3-6個月의 늙은이에서는 현저하지 아니하였고 또한 c AMP量도 前者에 있어서는 顯著히 增加되나 後者에서는 거의 變化가 없었다고 하였다. 外部에서 c AMP를 加하였을 때에도 亦是 前者는 弛緩이 일어나나 後者에서는 거의 나타나지 아니하였다고 한다. 그리고 phosphodiesterase 活性能은 연령의 增加로 減少된다고 하였다. 이와같은 現象은 肺動脈이나 氣管平滑筋에 있어서도 같은 樣相을 보인다고 하였다 (Aberly et al., 1973; Fleischer 및 Hooker, 1976).

사람에 있어서 尿中 c AMP의 24시간 排泄量을 觀察한 Gennari et al. (1976)의 報告에 依하면 年齡의 增加로 c AMP 排泄은 顯著히 減少된다고 하였다.

본 실험에서도 dibutyryl cyclic AMP의 억제효과가 幼年尿管에서 현저한 결과 또 內因性 cyclic AMP의 含量도 17개월 기니피그尿管보다 2주 기니피그尿管에서 현저히 높은 點등은 여러 장기에서 年令과 關聯한 報告들과 일치하는 바이며, 나아가서 이들 結果를 綜合하면尿管 平滑筋의 adrenergic β -receptor의 感變性 판단아니라尿管 平滑筋 자체의 弛緩反應이 年令의 增加로 甚히 鈍化됨을 알 수 있었다.

그리고 本實驗에서는 theophylline에 의하여尿管 收縮高가 顯著히 抑制되며 연령의 增加와는 無關한은 現在로서는 더 이상 說明하기 어려우나尿管의 閉鎖 또는 結石으로 因하여 惹起되는尿管 경련에는 이완 藥物로서 使用할 수 있는 可能性을 示唆하여 주는 것으로 思料되는 바이다.

要 約

1. guinea-pig尿管 平滑筋의 收縮 및 弛緩反應이 연령이 增加에 依하여 크게 影響을 받는다는 事實을 觀察하였다.

2. 2-3주, 3개월 및 2-3년 guinea-pig尿管을 切

출하고 Tyrode 液內에서 train stimulation 法으로 一定하게 收縮反應을 일으켰다.

3. Ca⁺⁺-free Tyrode 液에서 電氣刺戟 反應이 消失된 後 Ca⁺⁺ 含有 Tyrode 液을 加하여 惹起되는 收縮反應의 恢復에는 3個月 및 2-3年 尿管에 比하여 2-3週 尿管은 훨씬 낮은 濃度の Ca⁺⁺을 必要로 하였으며 비록 2.7mM Ca⁺⁺을 加하여도 2-3週 및 3個月 尿管에 있어서는 처음 수축고의 90% 이상을 회복하였으나 2-3年 尿管에서는 77.2%만 회복하였다.

4. ISP는 2-3년 尿管에 比하여 2-3週 尿管에 있어서 수축고의 抑制 效果가 有意하게 强하였고 theophylline 은 年齡에 관계없이 兩群모두 強力히 抑制作用을 나타내었다.

5. 2-3주 뇨관의 수축에 대하여 dibutyryl cyclic AMP 는 dose-dependent 하게 억제를 나타내었으나 2-3년 老尿管에 있어서는 이와같은 현상은 없었다. 그리고 尿管조직내 cyclic AMP 含量은 2주기니픽 뇨관에서는 17개월 뇨관에 比하여 73%의 높은 농도를 나타내었고 cyclic GMP 의 含量은 큰 차이를 볼 수 없었다.

6. 幼年 尿管平滑筋은 老尿管에 比하여 筋收縮 및 弛緩에 關與하는 Ca⁺⁺의 動員 및 貯藏에 있어서 높은 效率性を 가지고 있다고 思料되는 바이다.

REFERENCES

- 1) Åberg, G. and Adler, G.: *The effect of age on β-adrenoceptor activity in tracheal smooth muscle.* *Br. J. Pharmacol.*, 47:181, 1973.
- 2) Aizu, M. and Bando, T.: *Japanese J. Smooth Muscle Res.*, 10:175, 1974-Cited from J. T. Cheng: *Calcium-induced release of calcium in rectal smooth muscle of mice,* *Jap. J. Pharmacol.*, 26:73, 1976.
- 3) Akimoto, M., Biancani, P. and Weiss, R. M.: *Comparative Pressure-length-diameter relationships of neonatal and adult rabbit uterus.* *Invest. Urol.*, 14:297, 1977.
- 4) Andersson, R. G. G.: *Cyclic AMP and calcium ions in mechanical and metabolic responses of smooth muscles; Influence of some hormones and drugs.* *Acta. Physiol. Scand. Suppl.* 382, 1972.
- 5) Andersson, R., Lundholm, L., Lundholm, E. M. and Nilsson, K.: *Role of cyclic AMP*

- and Ca⁺⁺ in metabolic and mechanical events in smooth muscle.* *Advances in Cyclic Nucleotide Res.*, 1:213-229, 1972.
- 6) Batra, S.: *The role of mitochondria in the regulation of myoplasmic calcium concentration and secretion,* edited by E. Carfoli, North-Holland Pub. Co., pp. 87, 1975.
- 7) Bozler, E.: *Role of calcium in initiation of activity of smooth muscle.* *Am. J. Physiol.*, 216:671, 1969.
- 8) Cheng, J. T.: *Calcium-induced release of calcium in rectal smooth muscle of mice.* *Jap. J. Pharmacol.*, 26:73, 1976.
- 9) Cohen, M. L. and Berkowitz, B. A.: *Vascular contraction: Effect of age and extracellular calcium.* *Blood. Vessels*, 13:319, 1976.
- 10) Daniel, E. E.: *Attempted synthesis of data regarding divalent ions in muscle function.* *In Muscle,* edited by E. E. Daniel et al, New York, Pergamon, 1964.
- 11) Devine, C. E., Somlyo, A. V. and Somlyo, A. P.: *Sarcoplasmic reticulum and excitation-contraction coupling in mammalian smooth muscle.* *J. Cell Biol.*, 52:690, 1972.
- 12) Durbin, R. P. and Jenkinson, D. H.: *The effect of carbachol on the permeability of depolarized smooth muscle to inorganic ions.* *J. Physiol., London*, 157:74, 1962.
- 13) Edman, K. A. P. and Schild, H. O.: *The need for calcium in the contractile responses induced by acetylcholine and potassium in the rat uterus.* *J. Physiol., London*, 161:424, 1962.
- 14) Endo, M., Thaka, M. and Ogawa, Y.: *Calcium induced release of calcium from the sarcoplasmic reticulum of skinned skeletal muscle fibers,* *Nature*, 228:34, 1970.
- 15) Ericsson, : *β-adrenoceptor activity and cyclic AMP metabolism of rat aorta, variation with age.* *Acta Physiol. Scand.*, 89:Suppl. p. 10, 1973.
- 16) Ericsson, E. and Lundholm, L.: *Adrenergic β-receptor activity and cyclic AMP metabolism in vascular smooth muscle; Variation with age.* *Mechanisms of Aging and Development.* 4:1, 1975.

- 17) Fabiato, A. and Fabiato, F.: *Calcium release from the sarcoplasmic reticulum. Cir. Res.*, 40:119, 1977.
- 18) Fleisch, J.H. and Hooker, C.S.: *The relationship between age and relaxation of vascular smooth muscle in the rabbit and rat. Cir. Res.*, 38:243, 1976.
- 19) Ford, L.E. and Podolsky, R.J.: *Regenerative calcium release within muscle cells. Science*, 167:58, 1970.
- 20) Gennari, C., Galli, M. and Montagnani, M.: *Urinary cyclic adenosine monophosphate in young adults and elderly subjects. J. Clin. Path.*, 29:69, 1976.
- 21) Gilman, A.G.: *A protein binding assay for adenosine 3',5'-monophosphate, Proceedings of the National Academy of Sciences, U.S.A.*, 67:305, 1970.
- 22) Godfraind, T., Sturbois, X. and Verbeke, N.: *Calcium incorporation by smooth muscle microsomes. Biochemica et Biophysica Acta*, 45:254, 1976.
- 23) Goodford, P.J.: *The calcium content of the smooth muscle of the guinea pig taenia coli. J. Physiol., London*, 192:145, 1967.
- 24) Hong, K.W., Biancani, P. and Weiss, R.M.: *Age-dependent changes in ureteral contractility. 1978. (Under Press)*
- 25) Lakatta, E.G., Gerstenblith, G. and Angell, C.S.: *Prolonged contraction duration in aged myocardium. J. Clin. Invest.*, 55:61, 1975.
- 26) Lakatta, E.G., et al.: *Diminished inotropic response of aged myocardium to catecholamines. Cir. Res.*, 36:262, 1975.
- 27) McGuffee, L.J. and Bagby, R.M.: *Ultrastructure, calcium accumulation, and contractile response in smooth muscle. Am. J. Physiol.*, 230:1217, 1976.
- 28) Somlyo, A.P., Devine, C.E., Smolyo, A.V. and North, S.R.: *Sarcoplasmic reticulum and the temperature-dependent contraction of smooth muscle in calcium-free solution. J. Cell Biol.*, 51:722, 1971.
- 29) Somlyo, A.V. and Somlyo, A.P.: *Strontium accumulation by sarcoplasmic reticulum and mitochondria in vascular smooth muscle. Science* 174:955, 1971.
- 30) Tada, M., Kirchberger, M.A., Li, H.C. and Katz, A.M.: *Interrelationships between calcium and cyclicAMP in the mammalian heart. In calcium transport in contraction and secretion. edited by E. Carafoli. North-Holland Pub. Co., pp.373, 1975.*
- 31) Weiss, R.M., et al.: *Adenylate cyclase and phosphodiesterase activity in rabbit ureter. Invest. Urol.*, 15:15, 1977.