

해명 회장 운동에 대한 아드레날린성 α -수용체에 관한 연구

延世大學校 醫科大學 藥理學教室

<지도 洪 思 爽 교수>

高 昌 滿

= Abstract =

Studies on the Adrenergic Alpha-Receptor in the Guinea Pig Ileum

Chang Mann Ko

Department of Pharmacology, Yonsei University College of Medicine, Seoul, Korea

(Directed by Professor Sa Suk Hong, M.D.)

Intestine is innervated by an interconnected plexus of both sympathetic and parasympathetic nerve fibers. Sympathetic influence causes inhibition of intestinal motility mediated by both α - and β -adrenergic receptors.

The mechanism of intestinal relaxation by β -receptors has been extensively studied, but the function of α -receptors in intestinal motility is still unclear.

Although it is suggested that catecholamine reduces acetylcholine release and this may play an important role in α -receptor mediated intestinal relaxation, there is no definite evidences about the mechanism and site of action of α -receptor mediated relaxation. In this experiment, therefore, the effect and site of action of α -receptor agonists were investigated in the guinea pig ileum using electrical field stimulation.

The results are summarized as follows:

- 1) Electrical field stimulation elicited tonic contraction in isolated guinea pig ileum and this contraction was completely inhibited by the pretreatment of tetrodotoxin or atropine.
- 2) Norepinephrine, epinephrine and dopamine inhibited the contraction induced by electrical field stimulation but methoxamine and phenylephrine had little effects.
- 3) Inhibitory effects of norepinephrine and dopamine was partially blocked by yohimbine and phentolamine pretreatment. But haloperidol and propranolol pretreatment cause no effects on the electrical field stimulation induced contraction. Inhibitory effect of dopamine was completely blocked by both haloperidol and yohimbine pretreatment.
- 4) Inhibitory effects of norepinephrine and dopamine were little affected by the pretreatment with hexamethonium.

It is suggested that electrical field stimulation causes tonic contraction of guinea pig ileum by releasing acetylcholine from postganglionic fiber, and this release is blocked by presynaptic α -receptor activation.

* 본 연구의 일부는 1982년도 연세대학교 의과대학 약리학교실 유한 연구비로 이루어졌음.

서 론

아드레날린성 수용체에는 α - 및 β -의 두 수용체가 존재하며(Ahlquist, 1948) 일반적으로 이 두 수용체의 반응은 서로 상반되거나 장관운동에 있어서는 예외적으로 다같이 억압반응을 나타낸다. 그러나 억압작용의 기전은 수용체의 특성에 따라 각각 다르리라는 것은 쉽게 추측할 수 있다.

Sutherland 및 Rall(1957)은 아드레날린에 의해 세포내 cyclic-AMP가 증가된다고 보고하면서 더 나아가 이 cyclic AMP로 인해 protein kinase, phosphorylase 등이 연쇄적으로 활성화됨을 주장하였다. 장관에서도 β -수용체 흥분으로 인해 이러한 일련의 과정이 일어나 그 결과 Na^+ , K^+ ATPase가 활성화되고 Na^+ - Ca^{++} 교환의 증가로 근육수축에 필요한 Ca^{++} 이 소실되어 장관 평활근은 이완된다고 알려져 있다(Scheidt 등, 1979).

그러나 α -수용체 흥분에 의한 작용기전은 아직 충분히 알려져 있지는 않으며 여러 요인이 복합되어 있다고 추측된다.

Gillespie(1957)는 고양이 비장에서 수종의 α -수용체 봉쇄약물이 norepinephrine의 유리를 증가시키는 것을 관찰하였고 그후 여러 학자의 검색으로 norepinephrine 유리를 조절하는 α -수용체가 접합전(presynaptic) 신경섬유에 존재함을 알게 되었으며(De Potter 등, 1971; Starke, 1972; Enero 등, 1972; Cubeddu와 Weiner, 1975), 이 α -수용체를 접합후(postsynaptic) α -수용체(α_1 -수용체)와 구분하여 α_2 -수용체라고 명명하였다.

Norepinephrine의 유리를 억압시키는 α_2 -수용체와 더불어 norepinephrine의 유리를 증가시키는 접합전 β -수용체의 존재도 인정되고 접합전 α - 및 β -수용체는 서로 조화를 이루어 norepinephrine 유리를 조절한다고 추측하고 있다. 그 외에도 norepinephrine 유리를 조절하는 여러가지 접합전 수용체를 추정하고 있고 그중 dopamine 수용체, 무스카린성 수용체, 아편성 수용체 등의 역할이 인정되고 있다(Langer, 1981).

접합전 수용체는 norepinephrine 뿐 아니라 중추신경에서 epinephrine 유리에도 관여할 것이라는 보고도 있으며 또한 catecholamine에 의한 acetylcholine 유리 조절설도 오래전부터 주장되어 왔다. 즉, Paton 등(1955, 1969)은 해명 회장 중주근 절편에 norepinephrine 및 epinephrine을 적용하면 acetylcholine 유

리역제가 일어남을 관찰하여 이는 접합전 α -수용체 흥분에 의한 것이라고 하였으며 Starke(1972)는 토끼심장에서 미주신경 자극효과가 수종의 α -수용체 효현약물에 의해 감소함을 보고하였다.

α -수용체의 세포단위에서의 작용기전으로는 즉 α_1 -수용체가 흥분되면 세포내부의 Ca^{++} 이동이 증가되거나 또는 미토콘드리아와 같은 세포내 소기관으로부터 Ca^{++} 이 유리되어 세포내액의 Ca^{++} 이 증가되고 이로 인해 효소나 단백질의 인산화 반응(phosphorylation)이 촉진되므로 효소가 활성화되어 약리작용이 나타난다고 추측되고 있다. 한편 α_2 -수용체 흥분시에는 adenylylate cyclase가 억제되어 cyclic AMP를 감소시켜 효과를 나타내며 이러한 adenylylate cyclase 억압에는 guanylate triphosphate가 관여할 것으로 추측되고 있다(Exton, 1982).

장관운동을 억압하는 α -수용체의 작용은 확실히 알 수 없으나 adenylylate cyclase 억압에 의한 것이라는 주장과 접합전 α -수용체 활성화로 인한 acetylcholine 유리 억제에 의한 것이라는 주장(Bolton, 1979)이 있으나 실험적으로 입증되지 못하고 있다.

근육세포의 수축운동이 신경섬유를 통한 자극전달과 전위차 변동에 의함은 잘 알려져 있는 사실이며, 이러한 점을 바탕으로 직접 전기장 자극을 함으로써 신경을 통한 반응을 유발시킨 다음 여러약물을 투여하므로 그 효과를 검색할 수 있다. 즉 Paton(1955)은 해명 회장 절편에서 전기장 자극으로 인해 수축운동이 유발되고 이는 acetylcholine 유리에 의한 결과라고 보고하였으며, Scriabine과 Peklak(1970)은 acetylcholine 유리를 검색하는데 적합한 전기장 자극방법을 개선하여 제시하였다.

본 실험에서는 Scriabine과 Peklak의 전기장 자극 방법(1970)에 준하여 해명 회장 절편에서의 catecholamine과 acetylcholine 반응의 상호관계를 추구하고 acetylcholine 유리에 미치는 catecholamine의 효과를 검색하고 더 나아가 그 기전을 규명하고자 하였다.

실험재료 및 방법

일주일 이상 동물실 환경에 적응시킨 체중 400~700g의 해명의 머리를 강하게 타격하여 실신시키고 즉시 복부를 절개하여 회맹장 연결부위로부터 10센티미터 이내의 회장말단을 적출하여 Tyrode 용액내에서 세척하였다.

적출회장은 길이 1.5센티미터의 전층절편을 만들어

한쪽 끝은 이중벽 초자체 muscle chamber에 고정하고 다른 한 끝은 force displacement transducer(FT 0.3, Grass)에 연결하였으며 2개의 백금 전극을 통해 stimulator(SD 5, Grass)로 0.2 Hz, 5 msec, 60 V (maximal voltage)로 전기장 자극을 하면서 절편의 수축운동을 Polygraph(Model 7, Grass)에 묘사하였다. 이중벽 사이를 보온된 물로 순환시켜 Tyrode액의 온도를 37°C로 유지시키고 95% 산소와 5% 탄산가스의 혼합기체를 공급하였으며 Tyrode액에 각 약물을 투여하여 나타나는 수축곡선의 변화를 관찰하였다. 한편 yohimbine 및 haloperidol은 그 자체가 강한 수축억압을 나타내므로 약물 전처치 10~20분후 Tyrode 용액을 갈아준 다음 즉시 전기장 자극을 실시하였으며 5분후에 효현 약물을 투여하여 그 효과를 관찰하였다.

본 실험에 사용한 약물은 다음과 같다.

L-Norepinephrine bitartrate(Winthrop Lab.)

Dopamine(Sigma Chemical Co. USA)

Phentolamine mesylate(Ciba-Geigy Pharmaceutical)

Yohimbine HCl(Sigma Chemical Co. USA)

Haloperidol(Janssen Pharmaceutical, Netherland)

Propranolol(Ayerst Lab. Inc. USA)

Hexamethonium(USP)

Atropine sulfate(USP)

L-Epinephrine bitartrate(Sigma Chemical Co. USA)

Tetrodotoxin(국립과학수사연구소 제공)

Methoxamine(USP)

L-Phenylephrine(USP)

실 험 성 적

1) 전기장 자극으로 인한 해명 회장 절편의 수축 운동

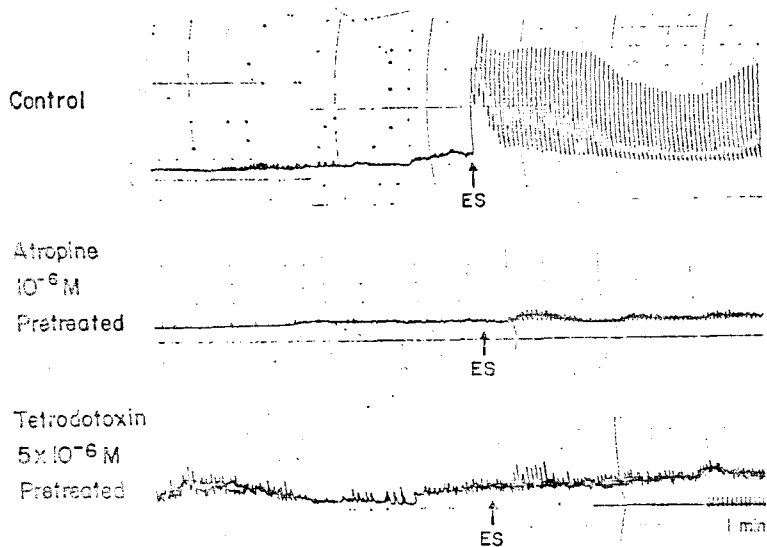
해명 회장 절편의 자발운동은 미약하였으며 전기장 자극으로 인해 긴장성 수축을 나타내었다. 이러한 수축반응은 30 V(0.2 Hz, 5 msec)에서 나타나기 시작하여 대부분 60V(0.2 Hz, 5 msec)에서 최대반응을 나타내었다(제 1도).

2) 전기장 자극 유발 장관수축에 대한 tetrodotoxin 및 atropine의 영향

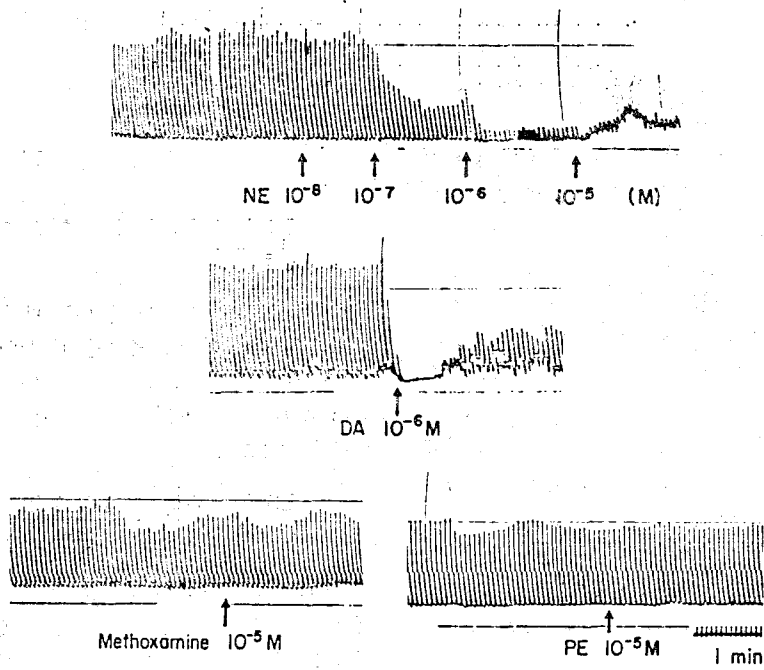
Tetrodotoxin $5 \times 10^{-6}M$ 처치후 25분에는 전기장 자극에 의한 수축반응이 완전히 억압되었으며 또한 atropine $10^{-6}M$ 투여로도 수축운동은 완전 억압됨을 관찰할 수 있었다(제 1도).

3) 교감신경성 효현제에 대한 실험

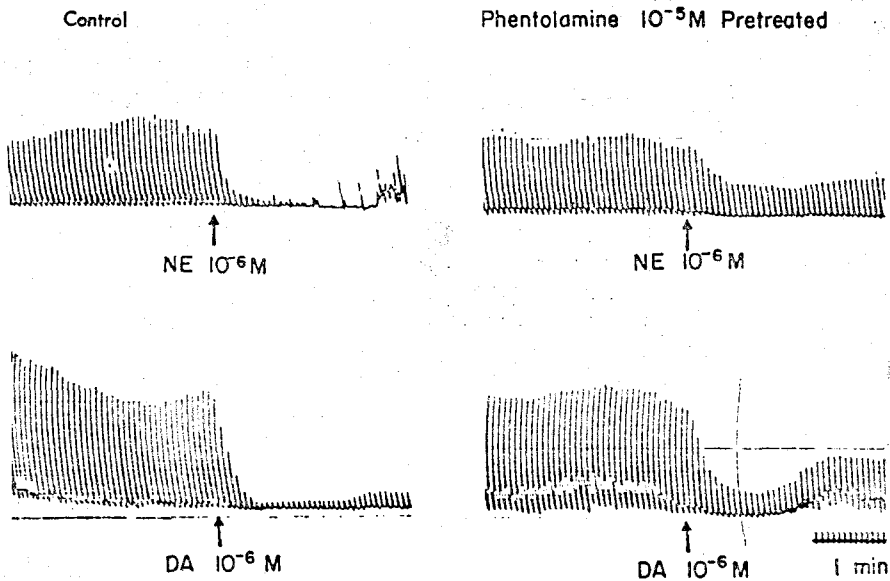
전기장 자극으로 유발되는 해명회장 절편의 수축운동은 norepinephrine으로 감소되고 용량에 비례하여 현저한 억압반응을 나타내었다. 즉 $10^{-7}M$ 투여로 미약한 억압이 나타나고 $10^{-6}M$ 또는 $10^{-5}M$ 투여로는 완전



제 1도. 해명 회장 절편에서 전기장 자극(0.2Hz, 5 msec 60 V) 유발 수축운동에 미치는 atropine 과 tetrodotoxin의 영향.



제 2 도. α -수용체 효현약물이 해명 회장 절편에서 전기장 자극 유발수축운동에 미치는 영향.
NE: norepinephrine, DA: dopamine, PE: phenylephrine

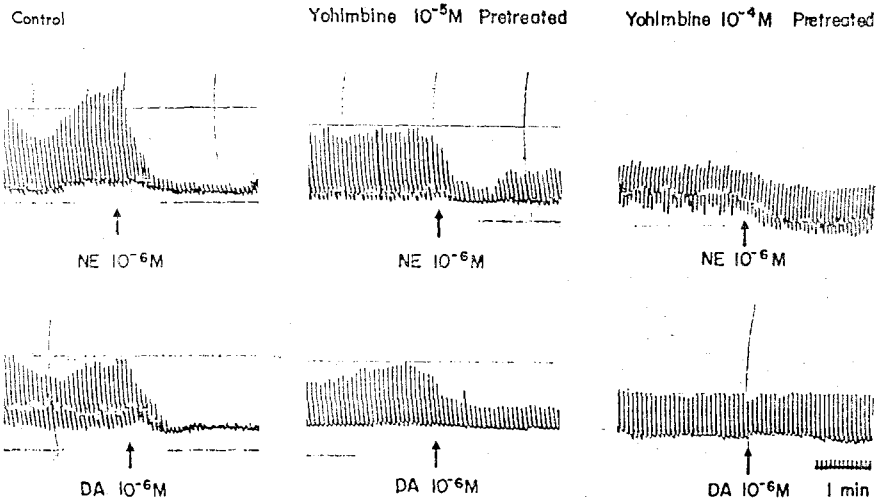


제 3 도. Phentolamine 전처치가 해명 회장 절편에서 norepinephrine(NE) 및 dopamine(DA)의 수축억압효과에 미치는 영향.

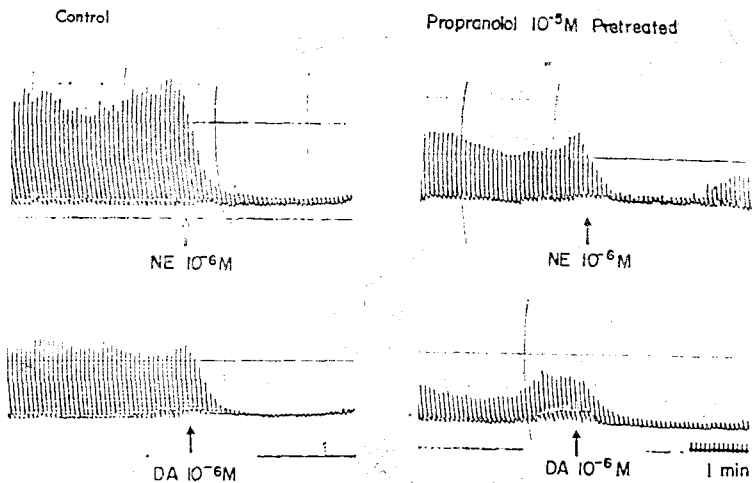
히 억압되었다.

이와같은 억압반응은 epinephrine $10^{-6}M$, dopamine $10^{-6}M$ 혹은 $10^{-5}M$ 투여에 의해서도 비슷하게 나타났

으나 methoxamine 또는 phenylephrine 으로는 $10^{-6}M$ 까지 농도를 증가시켜도 아무런 억제효과를 볼 수 없었다(제 2 도).



제 4 도. Yohimbine 전처치가 해명 회장 절편에서 norepinephrine(NE) 및 dopamine(DA)의 수축억압효과에 미치는 영향.



제 5 도. Propranolol 전처치가 해명 회장 절편에서 norepinephrine(NE) 및 dopamine(DA)의 수축억압효과에 미치는 영향.

4) 교감신경성 효현제의 억압효과에 미치는 수종
봉쇄약물의 영향

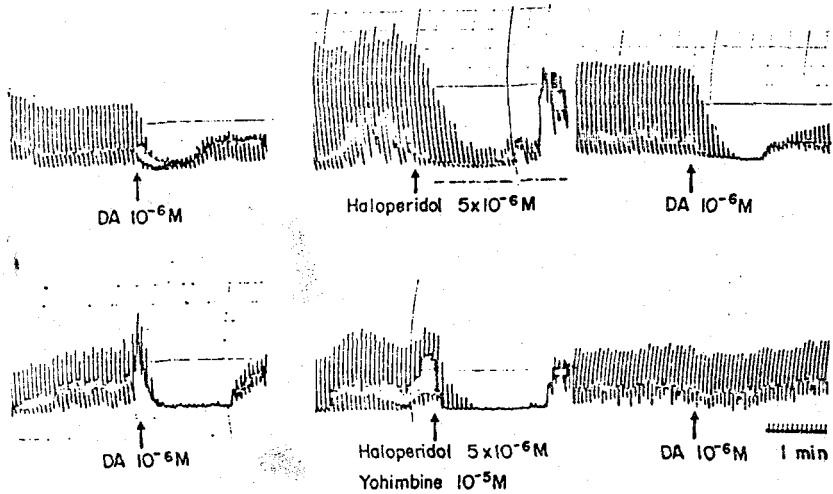
Norepinephrine, dopamine 또는 epinephrine 10^{-6} M로 인한 억압효과는 phentolamine(제 3 도) 또는 yohimbine 10^{-5} M 전처치로 부분적 봉쇄가 나타났으나(제 4 도), haloperidol 5×10^{-6} M 전처치는 상기물질의 억압반응에 아무런 변동을 주지 않았다(제 6 도).

그러나 대량의 yohimbine(10^{-4} M) 전처치로는 nore-

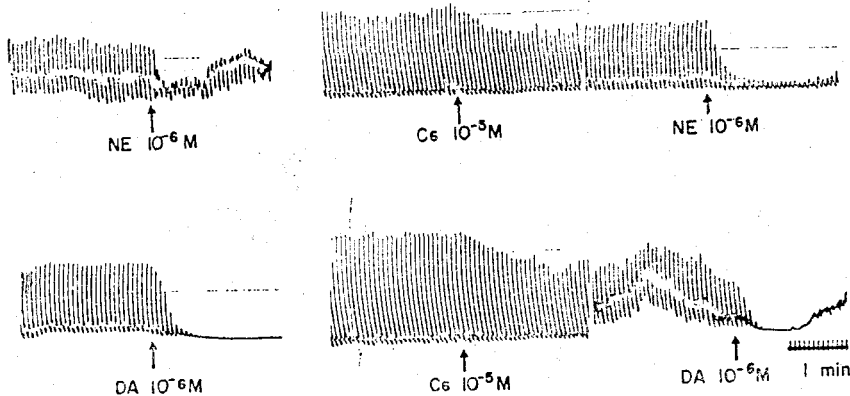
pinephrine 및 dopamine 10^{-6} M 투여효과가 완전히 봉쇄되었으며(제 4 도), 특히 dopamine의 작용은 haloperidol 5×10^{-6} 및 yohimbine 10^{-5} M 동시 전처치로 완전히 봉쇄되었다(제 6 도). 한편 propranolol은 norepinephrine 또는 dopamine 반응에 영향을 주지 못했다(제 5 도).

5) Hexamethonium 의 영향

전기장 자극으로 수축운동을 유발시킨 다음 hexame-



제 6 도. Haloperidol 과 yohimbine 이 해명 회장 절편에서 dopamine(DA)의 수축억압효과에 미치는 영향.



제 7 도. Hexamethonium 이 해명 회장 절편에서 전기장 자극 유발 수축운동과 norepinephrine(NE) 및 dopamine(DA)의 억압효과에 미치는 영향.

thonium $10^{-5}M$ 을 처치하면 수축운동은 경미한 억압이 나타났으며 계속하여 norepinephrine 을 투여함으로 용량에 비례한 억압을 여전히 볼 수 있었다. 또한 hexamethonium 은 dopamine 의 억압효과에도 별 변동을 주지 못했다(제 7 도).

고 찰

장관에 분포하는 부교감신경인 외인성 미주신경 섬유는 그 존재가 확실히 인정되나, 교감신경의 경우, 장관발생시 형성되는 내인성 섬유의 존재만 인정될 뿐 외인성 섬유의 존재에 대해서는 논란이 많다. 이러한 신경섬유는 특히 환상근에 많이 분포하고 중주근에는

적다고 알려져 있다(Richardson, 1958; Cheung 과 Daniel, 1980).

모든 신경섬유는 전기장 자극의 영향을 받을 수 있겠으나 나타나는 결과는 주로 acetylcholine 유리에 의한 효과이고(Paton, 1955; Scriabine 과 Peklak, 1970; Kosterlitz 등, 1980) 교감신경 자극효과나 주효세포를 직접 자극한 효과는 관찰되지 않는다고 한다. 본 실험에서도 tetrodotoxin 전처리로 수축운동이 완전 소실됨으로 보아 전기장 자극의 효과가 신경을 경유하여 나타남을 알 수 있고 atropine 으로 완전히 소실됨으로 보아 acetylcholine 유리에 의한 결과임을 인정할 수 있었으며 주효세포 직접자극에 의한 영향은 아님을 알 수 있다.

Starke 등(1975)은 토끼의 폐동맥 절편에서 접합전 α -수용체와 접합후 α -수용체에 대한 효과의 강도를 비교 검색하여 α -수용체 효현약물을 3가지로 분류하였다. 즉, 제 1군은 접합후 수용체에만 효과를 나타내는 약물로 methoxamine과 phenylephrine이 이에 속하고 제 2군은 접합전, 접합후 수용체에 같은 강도의 효과를 나타내는 약물로 epinephrine과 norepinephrine이 그 예이며 제 3군은 접합전 수용체에만 효과를 나타내는 약물로 oxymetazoline, α -methylnorepinephrine, tamazoline이 이에 속한다고 보고하였다. 본 실험에서 methoxamine과 phenylephrine은 전기장 자극 유발 장관수축반응에 영향을 미치지 못하나 norepinephrine, epinephrine은 강한 억제효과를 나타내어 norepinephrine, epinephrine이 접합전 수용체에 작용하여 나타내는 효과임을 알 수 있고 또한 acetylcholine 유리를 억압시킨다는 주장(Paton과 Vizi 1969; Kosterlitz 등, 1970)을 인정할 수 있었다. 한편 신경절 봉쇄약물인 hexamethonium 처치시에도 수축운동의 진폭이 다소 감소는 하나 계속 나타나는 것으로 보아 전기장 자극 반응은 주로 절후 신경섬유를 경유하여 나타남을 알 수 있다.

Eccles 및 Libet(1961)에 의하면 epinephrine은 신경절에서 억압성 접합후 전위(IPSP)를 형성하며 이 효과는 α_1 -봉쇄약물 투여로 봉쇄되는 것으로 보아 신경절에 α -수용체가 존재한다고 하였으며 이러한 α -수용체는 절후신경에 존재할 것이라고 하였다. 반면 Christ 및 Nishi(1971)는 epinephrine에 의해 억압성 접합후 전위가 형성됨을 재확인하였으나 이는 절전 α -수용체를 경유한 효과일 것이라고 주장하였다. 이후 신경절에서 catecholamine의 신경자극전달 억압에 대한 계속적인 추구로 신경절에는 norepinephrine, dopamine이 존재하고 특히 dopamine을 유리생성하는 세포가 존재하며 이는 억압성 접합후 전위형성에 관여함이 알려졌다(Greengard, 1976). 또한 De Groat 및 Saum(1972)은 방광활명근에서 α -수용체 효현약물에 의한 이완작용이 골반신경절(pelvic ganglion)에서 접합전 α -수용체 흥분으로 acetylcholine 유리가 억제되므로 나타난다고 주장하였다. 본 실험에서도 dopamine 길항제인 haloperidol과 α_2 -봉쇄제인 yohimbine을 소량 병행 전처치, 또는 yohimbine 대량 전처치로 dopamine이나 norepinephrine의 억압성효과가 완전 봉쇄됨으로 보아 해명 회장 절편에서도 아드레날린성 억압성 접합후 전위차를 형성하여 acetylcholine의 유리억제를 조성할 것이라 생각된다. 한편 phentolamine 전처치로

catecholamine에 의한 억압반응이 부분 봉쇄되고 yohimbine이 catecholamine의 수축 억압반응을 완전히 봉쇄하기 위해서는 대량이 필요하다는 결과도 α_2 -수용체 흥분 이외의 다른 기전이 존재하리라고 추측케 하며 앞으로 계속 추구하여야 할 과제라고 생각된다.

결 론

전기장 자극유발 해명 회장 절편의 수축운동을 약리학적으 로 검색하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1) 해명 회장 절편은 전기장 자극으로 수축운동이 나타나며 이는 tetrodotoxin 또는 atropine 투여로 완전히 봉쇄되었다.

2) Norepinephrine, epinephrine 또는 dopamine은 용량에 비례하여 전기장 자극 유발 수축운동을 억압하였으나 methoxamine 및 phenylephrine은 아무런 영향이 없었다.

3) Norepinephrine 및 dopamine의 억압효과는 소량의 yohimbine 또는 phentolamine 전처치로 부분적 봉쇄를 나타내나 대량의 yohimbine으로는 완전히 봉쇄되었고 haloperidol이나 propranolol로는 전혀 영향이 없었다.

4) Hexamethonium 처치로 수축운동은 경미한 진폭의 감소를 나타냈고 norepinephrine 및 dopamine 반응은 정상 절편 표본과 같이 용량에 비례하는 억압을 나타냈다.

이상의 결과로 보아 해명회장 절편에서 전기장 자극은 절후 신경섬유를 경유하여 acetylcholine 유리를 항진시키며 catecholamine은 전기장 자극으로 인한 acetylcholine의 유리를 억압시킴을 알 수 있고 이러한 효과는 부분적으로 α_2 -수용체 활성화에 연유한다고 생각한다.

참 고 문 헌

- Ahlquist, R.P.: *A study of the adrenergic receptors. Am. J. Physiol.*, 153:586-600, 1968.
- Ahlquist, R.P., Levy, B.: *Adrenergic receptive mechanism of canine ileum. J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 127:146-149, 1959.
- Bolton, T.B.: *Mechanism of action of transmitter and other substances on smooth muscle. Physiol. Rev.*, 59:606-718, 1979.
- Cheung, D.W., Daniel, E.E.: *Comparative study of*

- the smooth muscle layers of the rabbit duodenum. *J. Physiol. (Lond.)*, 309:13-27, 1980.
- Christ, D.D., Nishi, S.: Site of adrenaline blockade in the superior cervical ganglion of the rabbit. *J. Physiol. (Lond.)*, 213:107-117, 1971.
- Cubeddu, L.X., Weiner, N.: Nerve stimulation mediated overflow of norepinephrine and dopamine β -hydroxylase III. Effects of norepinephrine depletion on the α -presynaptic regulation of release. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 192(1):1-14, 1975.
- De Groat, W.C., Saum, W.R.: Sympathetic inhibition of the urinary bladder and of pelvic ganglionic transmission in the cat. *J. Physiol. (Lond.)*, 220:297-314, 1972.
- De Potter, W.P., Chubb, I.W., Put, A., De Schaeppdryver, A.F.: Facilitation of the release of noradrenaline and dopamine agents. *Arch. Int. Pharmacodyn.*, 193:191-197, 1971.
- Eccles, R.M., Libet, B.: Origin and blockade of the synaptic response of curarized sympathetic ganglia. *J. Physiol. (Lond.)*, 157:484-503, 1961.
- Enero, M.A., Langer, S.Z., Rothlin, R.P., Stefano, F.J.E.: Role of the α -adrenoceptor in regulating noradrenaline overflow by nerve stimulation. *Br. J. Pharmacol.*, 44:672-688, 1972.
- Exton, J.H.: Molecular mechanisms involved in α -adrenergic responses. *Trends Pharmacol. Sci.*, 3(3):111-115, 1982.
- Gillespie, J.S.: The output of sympathetic transmitter from the spleen of the cat. *J. Physiol. (Lond.)*, 138:81-102, 1957.
- Greengard, P.: Possible role for cyclic nucleotide and phosphorylated membrane proteins in postsynaptic actions of neurotransmitters. *Nature*, 260:101-108, 1976.
- Kosterlitz, H.W., Lydon, R.J., Watt, A.T.: The effects of adrenaline, noradrenaline and isoprenaline on inhibitory α - and β -adrenoceptors in the longitudinal muscle of the guinea pig ileum. *Br. J. Pharmacol.*, 39:398-413, 1970.
- Langer, S.Z.: Presynaptic regulation of the release of catecholamines. *Pharmacol. Rev.*, 32:337-362, 1981.
- Paton, W.D.M.: The response of the guinea pig ileum to electrical stimulation by coaxial electrodes. *J. Physiol. (Lond.)* 127:40-41, 1955.
- Paton, W.D.M., Vizi, E.X.: The inhibitory action of noradrenaline and adrenaline on acetylcholine output by guinea pig ileum longitudinal muscle strip. *Br. J. Pharmacol.*, 35:10-28, 1969.
- Richardson, K.C.: Electronmicroscopic observation on Auerbach's plexus in the rabbit, with special reference to problem of smooth muscle innervation. *Am. J. Anat.*, 103:99-136, 1958.
- Scheid, C.R., Honeyman, T.W., Fay, F.S.: Mechanism of β -adrenergic relaxation of smooth muscle. *Nature*, 277:32-36, 1979.
- Scriabine, A., Peklak, G.J.: Electrical stimulation of isolated guinea pig ileum. *J. Appl. Physiol.*, 28(6):860-862, 1970.
- Starke, K.: Alpha sympathomimetic inhibition of adrenergic and cholinergic transmission in the rabbit heart. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*, 274:18-45, 1972.
- Starke, K., Endo, T., Taube, H.D.: Relative pre and postsynaptic potencies of α -adrenoceptor agonist in the rabbit pulmonary artery. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*, 291:55-78, 1975.
- Sutherland, E.W., Rall, T.W.: Fractionation and characterization of a cyclic adenine ribonucleotide formed by tissue particle. *J. Biol. Chem.*, 232:1077-1091, 1957.