

# 적출한 고양이 위(胃) 평활근 절편의 전기적 및 기계적 활동에 미치는 Bombesin의 영향과 그 작용기전

한림대학교 의과대학 생리학교실

박형진 · 권혁일 · 서상원 · 김정미 · 이태형

(1990년 4월 20일 접수)

== Abstracts ==

## Effects of Bombesin on Electrical and Mechanical Activities of Gastric Smooth Muscle Strips of Cats

Hyoung Jin Park, Hyeok Yil Kwon, Sang Won Suh, Jeong Mi Kim and Tae Hyung Lee

*Department of Physiology, School of Medicine, Hallym University, Kangwon-Do, Korea*

It has been reported that bombesin induces contraction of the smooth muscle of the gastrointestinal tract. Thus, the present investigation was undertaken to see an influence of bombesin on electrical activity of the gastric smooth muscle, since electrical activity is associated with contractile activity in the smooth muscle of the stomach. Smooth muscle strips ( $5 \times 1.5$  cm) that included the corpus and antrum were prepared from the ventral and dorsal portion of the feline stomach along the greater curvature. Circular muscle strips ( $1 \times 0.3$  cm) of the corpus were also obtained. Electrical activity of the corpus and antrum of the muscle strip was monophasically recorded by using Ag-AgCl capillary electrodes placed on the circular muscle layer. Contractile activity of the circular muscle strip was also recorded. The recordings were performed in Krebs-Ringer solution that was continuously aerated with  $O_2$  containing 5%  $CO_2$ , and kept at  $36^\circ C$ . Dose-related responses of electrical activity and contractility to bombesin was studied after frequency of slow waves and contraction of each strip reached to a steady state. An action of D-leu<sup>13</sup>- $\psi$  ( $CH_2NH$ )-D-leu<sup>14</sup>-bombesin, D-pro<sup>2</sup>-D-trp<sup>7,9</sup>-substance P, tetrodotoxin, hexamethonium, atropine, phentolamine or propranolol on the effect of bombesin was also observed.

1) Bombesin increased frequency of slow waves and contractions dose-dependently at concentrations from  $10^{-9}$  M to  $3 \times 10^{-8}$  M.

2) The bombesin analogue at a concentration of  $3 \times 10^{-7}$  M antagonized the effect of bombesin on frequency of slow waves.

3) The effect of bombesin on frequency of slow waves was inhibited by tetrodotoxin ( $10^{-6}$  M) and hexamethonium ( $10^{-3}$  M) but unaffected by atropine ( $10^{-6}$  M), phentolamine ( $10^{-5}$  M) and propranolol ( $10^{-5}$  M).

4) The effect of bombesin on frequency of slow waves was blocked by the substance P analogue at a concentration of  $10^{-5}$  M.

5) Substance P at a concentration of  $10^{-5}$  M failed to change frequency of slow waves.

It is concluded from the above results that bombesin increases the frequency of slow waves as well as contractions of the smooth muscle strip from the feline stomach, and the effect of bombesin might be mediated by non-cholinergic or non-adrenergic mechanism at neuromuscular junction. However, enteric nerves that have substance P as a neurotransmitter do not appear to participate in the action

of bombesin on frequency of slow waves.

**Key Words:** bombesin, D-leu<sup>13</sup>-ψ (CH<sub>2</sub>NH)-D-leu<sup>14</sup>-bombesin, substance P, D-pro<sup>2</sup>-D-trp<sup>7,9</sup>-substance P, gastric slow wave, cat

## 서 론

bombesin은 Erspamer등(1970)에 의하여 유럽에 주로 서식하며 무당개구리의 일종인 *Bombina bombina*와 *B. variegata*의 피부에서 분리된 peptide로서 14개의 amino acid로 구성되어 있다(Anastasi et al, 1971). 한편, McDonald등(1978, 1979)은 돼지의 유문부를 제외한 위점막으로부터 27개의 amino acid로 구성된 gastrin releasing peptide를 분리하였으며 Minamino등(1988)은 돼지의 뇌와 척수에서 10개의 amino acid로 구성된 neuromedin C를 분리하였는데 이들 peptide는 화학적 구조와 생물학적 작용이 bombesin의 것과 아주 유사하여 포유류에 존재하는 bombesin 유사물질로 분류된다.

bombesin은 사람을 포함한 포유류에서 소화기능에 다양한 영향을 미치는 것으로 알려져 있다. 즉, gastrin을 포함하여 몇가지 종류의 소화 hormone 분비를 촉진하며(Bertaccini et al, 1974; Ghatei et al, 1982) 췌장의 소화효소 분비를 촉진할(Jensen et al, 1978)뿐만 아니라 위장관의 운동성을 증가시킨다(Mayer et al, 1982; Angel et al, 1984; Reynolds et al, 1986; Micheletti et al, 1988).

그러나, bombesin이 위장관의 운동성과 밀접한 관계가 있는 위장관의 전기적 활동에 미치는 영향은 아직 분명치 않다. 다만, bombesin이 개의 상부위장관에서 발생하는 서파(slow wave)의 빈도를 증가시키는(Caprilli et al, 1975; Poitras et al, 1983) 반면에 고양이 위의 유문부에서 발생하는 서파빈도에는 영향을 미치지 않는다는 상반된 결과가 있을 뿐이다(Reynolds et al, 1986). 그러므로, 본 실험에서는 bombesin이 위장관의 서파발생에 미치는 영향을 확인하고자 한다.

한편, bombesin이 내원성 신경계를 거쳐 위장관의 수축을 증가시킬 가능성이 제시되었다. Mayer 등(1982)과 Angel등(1984)은 각각 개의 유문부 평활근과 대장 평활근을 이용한 실험에서 bombesin이

이들 평활근 질편의 수축을 증가시키며 이러한 bombesin의 작용이 tetrodotoxin에 의하여 억제됨을 관찰하였다. bombesin 면역반응물질이 평활근층의 근층간 신경층에 존재하며(Ferri et al, 1983; Costa et al, 1984), 이것을 함유하는 신경섬유가 다른 내원성 신경섬유 뿐만 아니라 평활근 세포와도 직접 연결되고 있음을 보여주는 면역조직화학적 연구 결과(Moghimzadeh et al, 1983; Costa et al, 1984; Ekblad et al, 1984)는 bombesin이 내원성 신경계를 거쳐 위장관의 운동성에 영향을 미칠 가능성을 강력히 뒷받침하여 주는 것으로 생각된다. 한편, Vigna 등(1987)은 개에서 그리고 Micheletti등(1988)은 사람에서 위장관 평활근세포에 bombesin의 특수결합 장소가 존재함을 관찰하므로써 bombesin이 평활근 세포에 직접 작용하여 수축을 일으킬 가능성을 제시하였다. 그리고, Mayer등(1982)은 bombesin이 개의 위 평활근의 수축빈도를 증가시킨다고 주장하였다. 그러므로, 본 실험에서는 bombesin이 위장관의 서파발생에 영향을 미치는 작용기전을 아울러 알아 보고자 한다.

## 재료 및 방법

### 1. 실험동물

실험동물로는 체중이 1.5~2.5 kg되는 고양이 60 마리를 암수 구별없이 구입하여 1주일간 본 실험실에서 사육한 다음 실험 24시간 전부터 물은 충분히 공급하면서 먹이를 제한하였다.

### 2. 전기적 및 기계적 활동 기록

고양이의 복강에 urethane을 1g/kg씩 주사하여 마취하고 위를 적출하였다. 적출한 위를 4°C의 Krebs-Ringer 용액속에서 지방조직과 혈관등을 제거한 다음 대만을 따라 절개하고 내용물을 세척하였다. 위를 다시 소만을 따라 절개하여 복측과 배측으로 나눈 다음 점막을 박리제거하였다. 대만 쪽에서

체부와 유문부가 모두 포함되도록 하여 중주근의 방향으로 길이가 길고 크기가  $5 \times 1.5$  cm되는 평활근절편을 복측과 배측으로부터 각각 얻었다.

근절편을 기록용기에 고정하고 체부와 유문부의 운상근 표면에 전기적 활동을 기록하기 위한 전극을 각각 한개씩 부착하였다. 각 전극을 Dynograph(R 612, SensorMedics, USA)에 연결하고 자발적인 전기적 활동을 단극성으로 기록하였다(Bortoff, 1975). 용적이 25 ml인 기록용기는 Krebs-Ringer 용액으로 채워졌으며, 용액에는 5%  $\text{CO}_2$ 를 내포한  $\text{O}_2$ 를 계속 공급하는 한편 온도가  $36^\circ\text{C}$ 로 유지되도록 하였다. 전극으로는 Ag-AgCl선(직경 0.25 mm)을 모세초자관(내경 0.7 mm) 속에 삽입하여 제작한 것을 사용하였다. 한편, 운상근의 자발적인 수축을 기록하기 위하여 체부에서 운상근의 방향으로 길이가 길고 크기가  $1 \times 0.3$  cm되는 평활근절편을 얻었다. 기록용기 속에서 근절편의 한쪽 끝을 고정하고 다른쪽 끝을 force-transducer에 부착시킨 다음 Dynograph에 연결하여 등장성 수축을 기록하였다.

### 3. 평활근 활동에 대한 bombesin의 작용 측정

이들 평활근 절편을 기록용기 속에서 1시간 동안 안정시킨 다음 서파빈도와 수축빈도가 일정하게 되었을 때 bombesin(Sigma, USA)을  $10^{-9}$ ,  $3 \times 10^{-9}$ ,  $4.5 \times 10^{-9}$ ,  $6 \times 10^{-9}$ ,  $10^{-8}$  그리고  $3 \times 10^{-8}$  M의 농도로 각각 투여하고 서파와 수축을 20분간 기록하였다. 췌장의 외분비에서 bombesin에 대하여 길항적으로 작용한다고 알려진(Coy et al, 1988) D-leu<sup>13</sup>-ψ(CH<sub>2</sub>NH)-D-leu<sup>14</sup>-bombesin(Penninsula, USA)이 서파발생에 대한 bombesin의 작용에 어떠한 영향을 미치는가를 알아보기 위하여 이 bombesin 유도체를  $3 \times 10^{-7}$  M의 농도로 전처치한 다음 10분 후에 bombesin을  $6 \times 10^{-9}$  M의 농도로 투여하고 20분간 관찰하였다.

서파발생에 대한 bombesin의 작용이 신경을 경유하여 일어나는지 그리고 경유한다면 어떤 종류의 신경을 경유하는지를 알아보기 위하여 tetrodotoxin(Sigma, USA), hexamethonium(Sigma, USA), atropine(Sigma, USA), phentolamine(Ciba-Geigy, Swiss), propranolol(Sigma, USA) 등을 각각  $10^{-6}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$  그리고  $10^{-5}$  M의 농도로 투여한 다

음 이어서 10분 후에 bombesin을  $6 \times 10^{-9}$  M의 농도로 투여하고 20분간 관찰하였다. 또한, 췌장의 외분비에서 bombesin의 작용에 대하여 길항적으로 작용한다고 알려진(Jensen et al, 1981) D-pro<sup>2</sup>-D-trp<sup>7,9</sup>-substance P(Sigma, USA)가 서파발생에 대한 bombesin의 작용에 어떠한 영향을 미치는가를 알아보기 위하여 이 substance P 유도체를  $10^{-5}$  M의 농도로 투여한 다음 이어서 10분 후에 bombesin을  $6 \times 10^{-9}$  M의 농도로 투여하고 관찰하였으며, 다른 한편으로는 substance P(Sigma, USA)만을  $10^{-5}$  M의 농도로 투여하고 서파를 관찰하였다. 이들 화학물질들은 모두 0.1 ml의 Krebs-Ringer 용액에 용해시켜 사용하였다.

### 4. 측정치의 통계적처리

체부와 유문부에서 기록된 전기적 활동과 체부 운상근에서 기록된 수축으로부터 서파와 수축의 분당 발생빈도를 계산하였다. 화학물질의 효과를 알아보기 위하여 투여전의 서파빈도에 대한 투여후의 발생빈도의 증가를 백분율로 환산하였다. 모든 측정치는 평균±표준오차로 나타내었으며, 각 측정치의 평균의 차는 student t-test를 이용하여 검정하였고 유의성의 수준은 5%에 두었다.

## 실 험 성 적

### 1. 평활근 활동에 대한 bombesin의 작용

고양이 위에서 적출한 평활근 절편의 전기적 활동과 기계적 활동을 Fig. 1에 제시한다. 안정상태에서 체부와 유문부의 서파빈도는 각각 분당  $4.4 \pm 0.5$ 회와  $4.4 \pm 0.4$ 회이었고 체부와 유문부 사이에 차가 없었다. 이러한 상태에서 bombesin을 투여하면 시간이 경과함에 따라 서파빈도가 점차 증가하여 투여후 10분경에 최고치에 도달하였다. Bombesin을  $10^{-9}$ ,  $3 \times 10^{-9}$ ,  $4.5 \times 10^{-9}$ ,  $6 \times 10^{-9}$ ,  $10^{-8}$  그리고  $3 \times 10^{-8}$  M의 농도로 각각 투여했을 때 서파빈도와 운상근 수축빈도에 있어서 최고치의 증가율을 Fig. 2에 제시한다. bombesin의 농도가 높아짐에 따라 체부에서 발생하는 서파빈도의 최고치는 안정시에 비하여 각각  $14.6 \pm 11.7$ ,  $21.6 \pm 14.2$ ,  $32.5 \pm 10.0$ ,  $46.4 \pm 8.9$ ,

ELECTRICAL ACTIVITY

CORPUS



ANTRUM



MECHANICAL ACTIVITY

CORPORAL CIRCULAR M.



BBS

2 MIN

Fig. 1. An illustration of electrical and mechanical activities of smooth muscle strips obtained from the feline stomach in response to bombesin at a concentration of  $6 \times 10^{-9}$  M. Arrows indicate the moment of bombesin application.

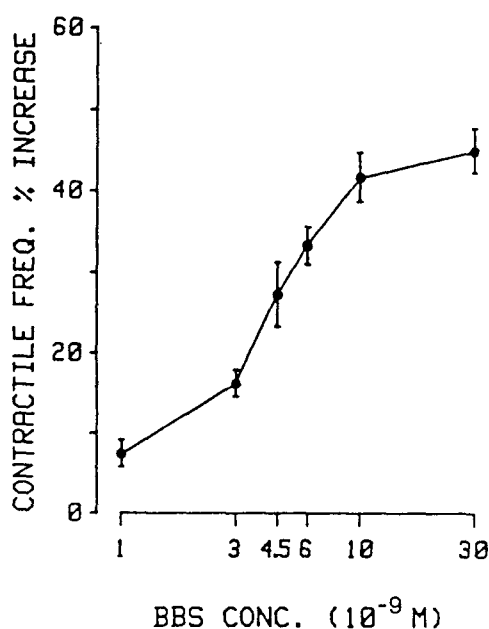
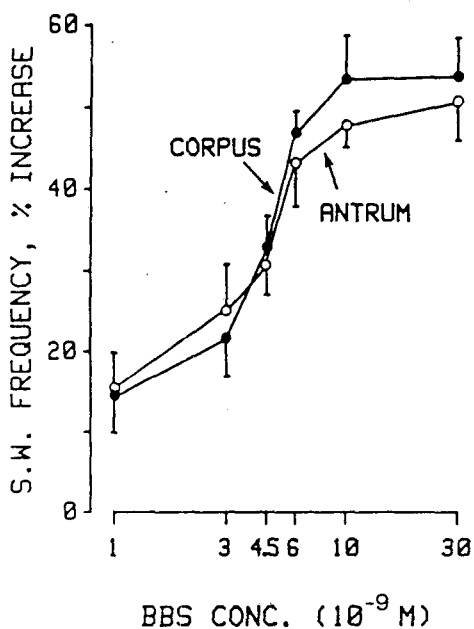


Fig. 2. Dose-related effect of bombesin on slow wave frequency recorded at the corpus and antrum of the smooth muscle strips (left) as well as spontaneous contractile frequency of circular smooth muscle strips of the corpus (right) obtained from the feline stomach.

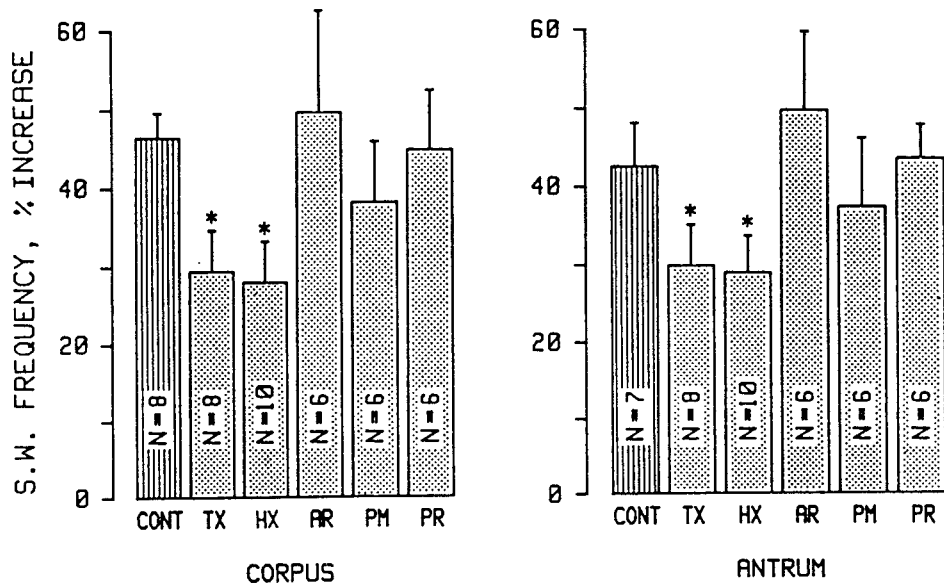


Fig. 3. Effects of some neuroblockers on slow wave frequency of the corpus (left) and antrum (right), which is stimulated by bombesin at a concentration of  $6 \times 10^{-9}$  M. Each bar represents mean  $\pm$  S.E. Asterisks mean the value is significantly ( $p < 0.05$ ) different from that of the control. Abbreviations; CONT: control (bombesin alone), TX: tetrodotoxin ( $10^{-6}$  M), HX: hexamethonium ( $10^{-3}$  M), AR: atropine ( $10^{-6}$  M), PM: phentolamine ( $10^{-5}$  M), PR: propranolol ( $10^{-5}$  M).

$53.4 \pm 15.4$  그리고  $53.7 \pm 12.9\%$  증가하였으며, 이러한 증가 양상은 유문부에서 발생하는 서파빈도에서도 동일하였다. 또한, 체부 윤상근의 자발적인 수축빈도도 bombesin의 농도가 증가됨에 따라 각각  $7.5 \pm 5.9$ ,  $16.2 \pm 6.8$ ,  $27.3 \pm 15.4$ ,  $33.3 \pm 11.3$ ,  $41.7 \pm 12.3$  그리고  $45.0 \pm 12.4\%$  증가하여 체부의 서파빈도와 유사한 경향을 나타내었다.

## 2. Bombesin 작용에 대한 신경차단제의 영향

Bombesin이 어떠한 신경기전을 거쳐 평활근의 서파빈도에 영향을 미치는가를 알아보기 위하여 tetrodotoxin, hexamethonium, atropine, phentolamine 그리고 propranolol을 각각  $10^{-6}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$  그리고  $10^{-5}$  M의 농도로 전처치하고 이어서 bombesin을  $6 \times 10^{-9}$  M의 농도로 투여하여 얻은 결과를 Fig. 3에 제시한다. tetrodotoxin을 전처치하고 이어서 10분 후에 bombesin을 투여하면 서파빈도의 최고치는 안정시의 값에 비하여 체부와 유문부에서 각각  $29.4 \pm 14.9\%$  그리고  $29.9 \pm 14.7\%$  증가하였다. 이러한 증가율은 bombesin만을 투여하고 얻은

해당값(체부  $46.4 \pm 8.9\%$ , 유문부  $43.9 \pm 15.9\%$ )에 비하여 모두 유의하게 ( $p < 0.05$ ) 낮았다. 또한, hexamethonium을 전처치하고 이어서 10분 후에 bombesin을 투여하면 체부와 유문부에서 서파빈도의 증가율은 각각  $28.0 \pm 16.5\%$ 와  $29.0 \pm 15.1\%$ 이었으며 이 증가율도 bombesin만을 투여하고 얻은 해당값에 비하여 모두 유의하게 낮았다 ( $p < 0.05$ ). 그러나, atropine, phentolamine 그리고 propranolol은 본 실험에서 사용한 농도에서 bombesin의 작용에 이렇다할 영향을 미치지 않았다.

## 3. Bombesin 작용에 대한 bombesin 유도체 및 substance P 유도체의 영향

수용체에서 bombesin에 대하여 길항적으로 작용하는 D-leu<sup>13</sup>-ψ(CH<sub>2</sub>NH)-D-leu<sup>14</sup>-bombesin이 bombesin의 작용에 미치는 영향을 Fig. 4에 제시한다. 이 bombesin 유도체를  $3 \times 10^{-7}$  M 농도로 전처치하고 이어서 10분 후에 bombesin을  $6 \times 10^{-9}$  M의 농도로 투여하였을 때 체부와 유문부에서 서파빈도는 각각  $26.8 \pm 11.9\%$ 와  $27.3 \pm 11.3\%$  증가하였다.

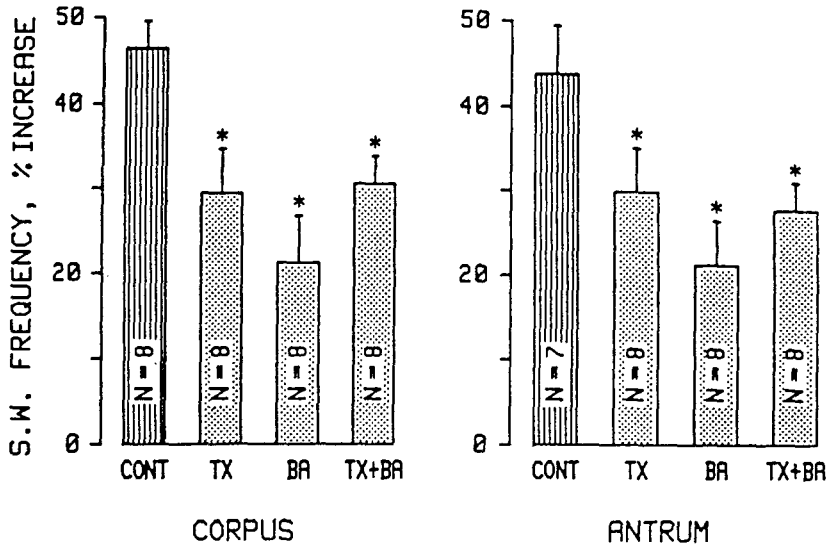


Fig. 4. Effect of D-leu<sup>13</sup>-Ψ(CH<sub>2</sub>NH)-D-leu<sup>14</sup>-bombesin, a bombesin analogue on slow wave frequency of the corpus (left) and antrum (right), which is stimulated by bombesin at a concentration of 6×10<sup>-9</sup> M. Each bar represents mean±S.E. Asterisks indicate the value is significantly (p<0.05) different from that of the control. Abbreviations; CONT: control (bombesin alone), TX: tetrodotoxin (10<sup>-6</sup> M), BA: bombesin analogue (3×10<sup>-7</sup> M).

이러한 증가는 bombesin만을 투여하여 얻은 해당값(체부 46.4±8.9%, 유문부 43.9±15.9%)에 비하여 유의하게(p<0.05) 낮았다. 한편, tetrodotoxin과 bombesin 유도체를 각각 10<sup>-6</sup>와 3×10<sup>-7</sup> M의 농도로 동시에 전처치하고 이어서 10분 후에 bombesin을 6×10<sup>-9</sup> M의 농도로 투여하면 체부와 유문부에서 서파빈도는 각각 30.6±3.3%와 29.78±3.3% 증가하였다. 이러한 증가는 bombesin만을 투여하여 얻은 해당값에 비하여 유의하게(p<0.05) 낮았으나, tetrodotoxin 또는 bombesin 유도체를 각각 단독으로 전처치하고 bombesin을 투여하여 얻은 해당값에 비하여서는 이렇다할 차가 없었다.

substance P의 유도체인 D-pro<sup>2</sup>-D-trp<sup>7,9</sup>-substance P를 10<sup>-5</sup> M의 농도로 전처치하고 이어서 10분 후에 bombesin을 6×10<sup>-9</sup> M의 농도로 투여하면 서파빈도는 체부와 유문부에서 각각 17.3±14.3% 그리고 15.0±13.6% 증가하는데, 이러한 증가는 bombesin만을 투여하고 얻은 해당값에 비하여 유의하게(p<0.01) 낮았다(Fig. 5). 그러나, substance P는 10<sup>-5</sup> M의 농도에서 서파빈도에 이렇다할 영향을 미치지 않았다(Fig. 6).

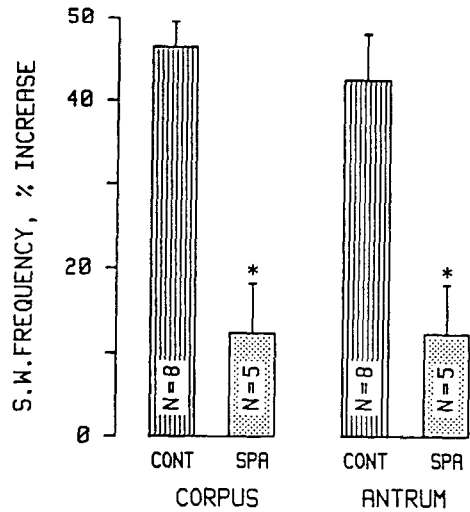
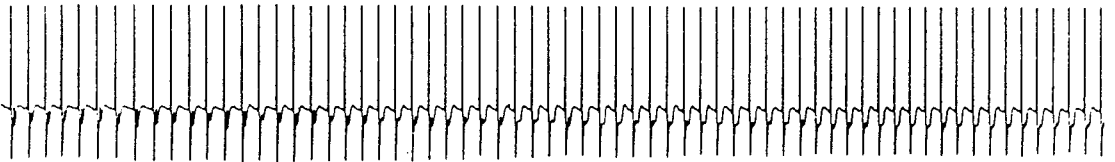


Fig. 5. Effect of D-pro<sup>2</sup>-D-trp<sup>7,9</sup>-substance P, a substance-P analogue on slow wave frequency of the corpus (left) and antrum (right), which is stimulated by bombesin at a concentration of 6×10<sup>-9</sup> M. Each bar represents mean±S.E. Asterisks indicate the value is significantly (p<0.05) different from that of the control. Abbreviations: CONT: control (bombesin alone), SPA: substance P analogue (10<sup>-5</sup> M).

CORPUS



ANTRUM



SUBSTANCE P

2 MIN

Fig. 6. Effect of substance P at a concentration of  $10^{-5}$  M on electrical activity of the corpus (upper) and antrum (lower) of a smooth muscle strip obtained from the feline stomach.

고찰

본 실험에서 bombesin은 고양이로부터 적출한 평활근 절편의 체부와 유문부에서 발생하는 서파빈도와 체부 윤상근의 수축빈도를 모두 농도 의존적으로 증가시켰다. 이러한 결과는 이미 개를 사용하여 얻은 실험결과와 잘 부합한다. 즉, Caprilli등(1975)은 마취한 개에서 그리고 Poitras등(1983)은 마취하지 않은 개에서 각각 bombesin이 유문부를 포함한 상부 위장관에서 발생하는 서파빈도를 증가시킨다고 보고하였다. Mayer등(1982)은 bombesin이 개의 위에서 얻은 평활근 절편의 자발적 수축빈도와 그 크기를 증가시킨다고 보고하였으며, Fox와 McDonald(1984)는 마취한 개에서 위에 인접한 국소동맥으로 bombesin을 투여할 때 투여한 양에 비례하여 위의 내압이 상승함을 관찰하였다. 또한, 마취한 고양이에서 bombesin이 하부 식도괄약부의 내부압력과 전기적 활동을 증가시킨다는 보고도 있다 (Reynolds et al, 1986). 이러한 결과들을 종합하여

보면 bombesin은 위 평활근의 수축은 물론 서파발생에 대하여 촉진적으로 작용함이 확실한 것 같다.

한편, bombesin은 분산된 췌장선포에서 amylase의 분비를 촉진하는데 이러한 bombesin의 작용을 D-leu<sup>13</sup>-Ψ(CH<sub>2</sub>NH)-D-leu<sup>14</sup>-bombesin이 농도 의존적으로 억제하기 때문에 이 bombesin 유도체는 bombesin의 선택적인 길항제로 알려졌다(Coy et al, 1988). 그러나, D-leu<sup>13</sup>-Ψ(CH<sub>2</sub>NH)-D-leu<sup>14</sup>-bombesin이 위장관 평활근에 대한 bombesin의 작용에도 길항적으로 작용하는지는 아직까지 보고된 바 없다. 본 실험에서 이 bombesin 유도체가 서파빈도를 촉진하는 bombesin의 작용을 억제하였으므로 D-leu<sup>13</sup>-Ψ(CH<sub>2</sub>NH)-D-leu<sup>14</sup>-bombesin은 위 평활근의 서파빈도를 증가시키는 bombesin의 작용에 대하여도 길항적으로 작용하는 것으로 생각된다.

위 평활근의 수축빈도에 대한 bombesin의 작용기전은 평활근의 종류에 따라 차이가 있다는 주장이 있다. 즉, Mayer등(1982)은 개의 위에서 박리한 평활근 절편을 이용한 실험에서 bombesin이 윤상근에는 직접 작용하는 반면에 중주근에는 내원성 신경

계를 거쳐 간접적으로 작용하여 수축빈도를 증가시킨다고 주장하였다. 위장관의 수축빈도와 서파빈도 사이에는 상관관계가 있으므로 (You & Chey, 1984), 본 실험에서 bombesin이 어떤 작용기전을 거쳐 서파발생에 촉진적인 영향을 미치는가를 규명하고자 시도하였다. 그 결과를 요약하면, 첫째 서파빈도를 증가시키는 bombesin의 작용이 tetrodotoxin과 hexamethonium에 의하여 각각 억제되었으며, 둘째 bombesin의 작용을 억제하는 D-leu<sup>13</sup>-Ψ (CH<sub>2</sub>NH)-D-leu<sup>14</sup>-bombesin의 작용이 tetrodotoxin에 의하여 영향을 받지 않았고, 셋째 bombesin의 작용이 atropine, phentolamine 또는 propranolol 등에 의하여 아무런 영향을 받지 않았다.

이러한 결과로 보아 bombesin은 내원성 신경계의 interneuron에 작용하며, 이 interneuron은 신경근 연결에서 acetylcholine이나 noradrenalin을 전달물질로 사용하는 신경이 아닌 다른 종류의 신경을 거쳐 서파빈도를 증가시키는 것으로 추측된다. 비록 고양이에서는 아직까지 확인되지 않았으나 흰쥐 (Dockray et al, 1979; Schultzburg & Dalsgaard, 1983)와 돼지 (Holst et al, 1987)의 위점막과 근층간 신경층에 bombesin을 함유하는 신경세포가 많이 존재함이 면역조직화학법으로 관찰되었다. 또한, 고양이 위에서 bombesin이 신경성으로 gastrin의 분비를 촉진한다는 주장 (Uvnas-Wallensten & Andersson, 1977)이 있다. 이러한 소견들은 bombesin이 interneuron을 거쳐 작용하는 본 실험의 결과를 강력하게 뒷받침하여 주는 것으로 생각한다.

근간에 이르러 위장관의 내원성 신경계에서 peptide가 신경전달물질로 사용될 가능성이 강력히 시사되고 있으며, 이들 peptide중에서 bombesin의 작용에 깊이 간여하는 것으로 알려진 것이 몇가지 있다. 그중 하나는 substance P로서 이 peptide는 위장관 모든 부위의 내원성 신경계에서 발견되며 (Holzer & Lippe, 1984; Souquet et al, 1987) bombesin이 이 peptide를 신경전달물질로 사용하는 내원성 신경을 거쳐 평활근의 수축에 촉진적인 영향을 미친다는 주장이 있다. 즉, Angel등(1984)은 개의 대장에서 박리한 점막하 평활근 절편을 기록용기에 넣고 bombesin을 투여하면 근절편의 수축과 더불어 기록용기의 용액내에 substance P의 농도가 증가하

는데 tetrodotoxin을 전처치하면 이러한 bombesin 작용은 소실되며, 또한 substance P에 대한 항체를 전처치하면 bombesin으로 인한 근절편의 수축이 사라짐을 관찰하였다. 또한, Mayer등(1986)은 substance P가 개의 유문부 윤상근 절편의 수축빈도를 증가시킨다고 보고하였으며, Reynolds등(1986)은 bombesin이 하부 식도괄약부의 내압을 상승시키는데 있어 substance P가 관여한다고 주장하였다.

그러므로, 본 실험에서 substance P가 서파빈도를 증가시키는 bombesin의 작용에 개재하는지를 알아보고자 하였다. D-pro<sup>2</sup>-D-trp<sup>7,9</sup>-substance P는 guinea pig에서 substance P로 유발된 대장 결장뉴의 수축을 억제하는 (Leander et al, 1981) 등 substance P의 길항제로 알려졌다. 본 실험에서 D-pro<sup>2</sup>-D-trp<sup>7,9</sup>-substance P가 서파빈도를 증가시키는 bombesin의 작용을 억제하였는데 이러한 결과는 substance P가 서파빈도에 대한 bombesin의 작용에 개재할 가능성을 제시하는 것으로 생각된다. 그러나, 비록 substance P가 개의 유문부에서 박리한 평활근의 수축빈도를 증가시킨다는 보고가 있기는 하지만 (Mayer et al, 1986) substance P가 서파의 발생빈도를 증가시킨다는 보고는 찾아 볼 수 없다. 오히려 Milenov등(1978)은 높은 농도의 substance P가 서파의 발생빈도를 감소시키는 경향을 나타낸다고 보고하였다. 본 실험에서도 substance P가 서파의 발생빈도에 이렇다할 영향을 미치지 않았다. 이러한 결과들을 종합하여 보면 substance P는 서파의 발생빈도에 영향을 미치지 않는 것으로 생각되며, 따라서 D-pro<sup>2</sup>-D-trp<sup>7,9</sup>-substance P는 substance P의 작용을 차단하는 것이 아니라 오히려 bombesin의 작용을 차단한 것으로 추측된다. 이미 고양이에서 bombesin으로 유발된 하부 식도괄약부의 수축을 이 substance P 유도체가 억제하였다는 보고가 있다 (Reynolds et al, 1986). 그러므로 D-pro<sup>2</sup>-D-trp<sup>7,9</sup>-substance P가 평활근의 서파발생에 대한 bombesin의 작용에도 길항적으로 작용할 가능성은 충분히 있는 것으로 생각된다. 따라서, bombesin이 substance P를 신경전달물질로 사용하는 내원성 신경계를 거쳐 서파의 발생빈도를 증가시킬 가능성은 매우 희박한 것으로 생각된다.

다른 peptide로는 cholecystokinin을 생각할 수 있



다. 이 물질도 위장관의 내원성 신경계에 존재할 뿐만 아니라(Dockray, 1981), 위 평활근의 수축빈도를 증가시킨다(Mayer et al, 1982). 또한, bombesin에 의하여 유리된다는 보고(Ghatei et al, 1982)로 보아 bombesin이 내원성 신경세포에서 cholecystokinin을 유리시켜 평활근의 활동에 영향을 미칠 가능성은 충분히 있는 것으로 추측된다. 그러나, 위 평활근의 수축을 증가시키는 bombesin의 작용이 cholecystokinin의 길항제로 알려진 dibutyl cGMP (Poitras et al, 1980)에 의하여 영향을 받지 않는다는 결과(Mayer et al, 1982)가 있으므로 서파의 발생빈도를 증가시키는 bombesin의 작용에 cholecystokinin을 전달물질로 사용하는 신경이 개재하는지 여부는 앞으로의 연구에서 밝혀져야 하리라 생각한다.

## 요 약

bombesin의 생물학적 활성중 하나는 위장관의 평활근을 수축시키는 작용이다. 그러므로, 본 실험에서는 bombesin이 위장관의 운동성과 관계가 깊은 평활근의 전기적 활동에 미치는 영향과 신경기전을 밝히고자 하였다. 고양이 60마리로부터 urethane 마취하에 위를 적출한 다음 대만 쪽에서 체부와 유문부가 포함된 평활근 절편을 얻었으며 또한 체부에서 윤상근 절편을 얻었다. 평활근 절편을 Krebs-Ringer 용액으로 채워진 기록용기에 넣고 Ag-AgCl 전극을 사용하여 체부와 유문부에서 서파를 기록하는 한편 윤상근 절편의 자발적 수축을 기록하였다. 기록용기 속의 용액에는 5% CO<sub>2</sub>를 내포한 O<sub>2</sub>를 계속 공급하였으며, 용액의 온도는 36°C가 유지되도록 하였다. 기록용기 속에서 1시간 동안 안정시킨 다음 서파빈도와 수축빈도가 일정하여지면 bombesin과 그 유도체, substance P와 그 유도체 그리고 몇가지 종류의 신경차단제를 각각 투여하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1) bombesin은 10<sup>-9</sup> M에서부터 3×10<sup>-8</sup> M 사이의 농도에서 서파빈도와 수축빈도를 농도-의존적으로 증가시켰다.

2) bombesin 유도체인 D-leu<sup>13</sup>-Ψ(CH<sub>2</sub>NH)-D-leu<sup>14</sup>-bombesin은 서파빈도를 증가시키는 bombesin

의 작용을 억제하였다.

3) 서파빈도를 증가시키는 bombesin의 작용에 대하여 tetrodotoxin과 hexamethonium은 억제적으로 작용하였으나 atropine, phentolamine 그리고 propranolol은 이렇다할 영향을 미치지 않았다.

4) 서파빈도를 증가시키는 bombesin의 작용에 대하여 substance P 유도체인 D-pro<sup>2</sup>-D-trp<sup>7,9</sup>-substance P는 억제적으로 작용하였다.

5) substance P 자체는 서파빈도에는 영향을 미치지 않았다.

이상의 결과로 보아 (1) bombesin은 적출한 고양이 위 평활근의 서파빈도와 체부 윤상근의 수축빈도를 증가시키며, (2) bombesin은 신경-근 연결에서 acetylcholine이나 noradrenalin을 신경전달물질로 사용하지 않는 내원성 신경을 거쳐 서파빈도를 증가시키는 것으로 생각된다. (3) 그러나, bombesin이 서파의 발생빈도를 증가시키는 과정에 substance P를 신경전달물질로 사용하는 신경이 개재하는 것 같지는 않다.

## REFERENCES

- Anastasi A, Erspamer V & Bucci M (1971). Isolation and structure of bombesin and alytesin, two analogous active peptides from the skin of the European amphibians Bombina and Alytes. *Experientia* 27, 166-167
- Angel F, Go VLW & Szurszewski JH (1984). Innervation of the muscularis mucosae of canine proximal colon. *J Physiol* 357, 93-108
- Bertaccini G, Erspamer V, Melchiorri P & Soprani N (1974). Gastrin release by bombesin in Dog. *Br J Pharmac* 52, 219-225
- Bortoff A (1975). Recording of extracellular electrical activity. *Methods Pharmac* 3, 185-199
- Caprilli R, Melchiorri P, Importa G, Vernia P & Frieri G (1975). Effects of bombesin and bombesin-like peptides on gastrointestinal myoelectric activity. *Gastroenterology* 68, 1228-1235
- Costa M, Furness JB, Yanaihara N, Yanaihara C & Moody TW (1984). Distribution and projection of neurons with immunoreactivity for both gastrin-

- releasing peptide and bombesin in the guinea-pig small intestine. *Cell Tissue Res* 235, 285-293
- Coy DH, Heinz-Erian P, Jiang NY, Sasaki Y, Taylor J, Mareau JP, Wolfrey WT, Gardner JD & Jensen RT (1988). Probing peptide backbone function in bombesin. *J Biol Chem* 263, 5056-5060
- Dockray GJ, Vaillant C & Walsh JH (1979). The neuronal origine of bombesin-like immunoreactivity in the rat gastrointestinal tract. *Neuroscience* 4, 1561-1568
- Dockray GJ (1981). Cholecystokinin. In: Bloom SR & Polak JM (ed) *Gut hormones*. Churchill Livingstone, New York, p228-239
- Ekblad E, Ekman R, Hakanson R & Sundler F (1984). GRP neurons in the rat small intestine tissue long anal projections. *Regul Pept* 9, 279-287
- Erspamer V, Falconieri Erspamer G & Inselvini M (1970). Some pharmacological actions of alytesin and bombesin. *J Pharm Pharmac* 22, 875-876
- Ferri GL, Adrian TE, Ghatei MA, O'Shaughnessy DJ, Probert L, Lee YC, Buchan AMC, Polak JM & Bloom SR (1983). Tissue localization and relative distribution of regulatory peptides in separated layers from human bowel. *Gastroenterology* 84, 777-786
- Fox JET & McDonald TJ (1984). Motor effects of gastrin releasing peptide (GRP) and bombesin in the canine stomach and small intestine. *Life Sci* 35, 1667-1673
- Ghatei MA, Jung RT, Stevenson JC, Hillyard CJ, Adrian TE, Lee YC, Christofides, Sarson DL, Mashiter K, MacIntyre I & Bloom SR (1982). Bombesin: Action on gut hormone and calcium in man. *J Clin Endocrin Metab* 54, 980-985
- Holst JJ, Knuhtsen S, Orskov C, Skak-Nielsen T, Poulsen SS, Jensen SL & Nielsen OV (1987). GRP nerves in pig antrum: role of GRP in vagal control of gastrin secretion. *Am J Physiol* 253, G643-G649
- Holzer P & Lippe IT (1984). Substance P can contract the longitudinal muscle of the guinea-pig small intestine by releasing intracellular calcium. *Br J Pharmac* 82, 259-267
- Jensen RT, Moody T, Pert C, Rivier JE & Gardner JD (1978). Interaction of bombesin and litorin with specific membrane receptors on dispersed pancreatic acinar cells. *Proc Natl Aca Sci USA* 75, 6139-6143
- Leander S, Hakanson R, Rosell S, Folkers K, Sundler F & Tornqvist K (1981). A specific substance P antagonist blocks smooth muscle contractions induced by non-cholinergic, non-adrenergic nerve stimulation. *Nature* 294, 467-469
- Mayer EA, Elashoff J & Walsh JH (1982). Characterization of bombesin effects on canine gastric muscle. *Am J Physiol* 243, G141-G147
- Mayer EA, Van Deventer G, Elashoff J, Khawaja S & Walsh JH (1986). Characterization of substance P effects on canine antral muscle. *Am J Physiol* 251, G140-G146
- McDonald TJ, Nilsson G, Vagne M, Ghatei M, Bloom SR & Mutt V (1978). A gastrin-releasing peptide from the porcine non-antral gastric tissue. *Gut* 19, 767-774
- McDonald TJ, Jornvall H, Nilsson G, Vagne M, Ghatei M, Bloom SR & Mutt V (1979). Characterization of gastrin-releasing peptide from porcine non-antral gastric mucosa. *Biochem Biophys Res Commun* 90, 227-233
- Micheletti R, Grider JR & Makhlof GM (1988). Identification of bombesin receptors on isolated muscle cells from human intestine. *Regul Pept* 21, 219-226
- Milenov K, Oehme P, Bienert M & Bergmann J (1978). Effect of substance P on Mechanical and myoelectrical activities of stomach and small intestines in conscious dog. *Arch Int Pharmacodyn* 233, 251-260
- Minamino N, Kangawa K & Matsuo H (1988). Neuromedin B and Neuromedin C, Two mammalian bombesin-like peptides identified in porcine spinal cord and brain, In: Tach Y, Melchiorri P & Negri L (ed) *Bombesin-like peptides in health and disease*. The New York Academy of Sciences, New York, p373-390
- Moghimzadeh E, Ekman R, Hakanson R, Yanaihara N & Sundler F (1983). Neuronal gastrin-releasing peptide in the mammalian gut and pancreas. *Neuroscience* 10, 553-563
- Poitras P, Iacino D & Walsh JH (1980). Dibutyryl cGMP: inhibitor of the effect of cholecystokinin and gastrin on the guinea-pig pancreas. *Biochem Biophys Res Commun* 96, 476-482
- Poitras P, Tasse D & LaPrise P (1983). Stimulation of motilin release by bombesin in dogs. *Am J Physiol*

245, G249-G256

Reynolds JC, Dukehart MR, Ouyang A & Cohen S (1986). Interactions of bombesin and substance P at the feline lower esophageal sphincter *J Clin Invest* 77, 436-440

Schultzburg M & Dalsgaard CJ (1983). Enteric origin of bombesin immunoreactive fibers in the rat coeliac-superior mesenteric ganglion. *Brain Res* 269, 190-195

Souquet JC, Bitar KN, Grider JR & Makhlouf GM (1987). Receptors for substance P on isolated intestinal smooth muscle cells of the guinea-pig. *Am J Physiol* 253, G666-G672

Uvnas-Wallenseten K & Andersson H (1977). Effect of atropine and metiamide on vagally induced gastric acid secretion and gastrin release in anesthetized cats. *Acta Physiol Scand* 99, 496-502

Vigna SR, Mantyh CR, Giraud AS, Soll AH, Walsh JH & Mantyh PW (1987). Localization of specific binding sites for bombesin in the canine gastrointestinal tract. *Gastroenterology* 93, 1287-1295

You CH & Chey WY (1984). Study of electromechanical activity of the stomach in humans and in dogs with particular attention to tachygastria. *Gastroenterology* 86, 1460-1468