

## Caerulein의 담낭수축작용에 관한 연구\*

延世大學校 醫科大學 藥理學教室

趙 台 淳 · 金 源 准 · 洪 思 爽

=Abstract=

### Studies on the gallbladder contraction induced by caerulein

T.S. Cho, W.J. Kim and S.S. Hong

Department of Pharmacology Yonsei University College of Medicine  
Seoul, Korea

The effects of phenoxybenzamine and other related drugs were studied for their interaction with caerulein on gallbladder contraction in anesthetized animals and isolated gallbladder strips.

Cholecystostomy and cystic duct ligation were made on anesthetized dog, cat and pig. Pressure changes of gallbladder were measured by a physiological pressure transducer connected to polygraph recorder. Isolated rabbit gallbladder strips were placed in a muscle chamber containing Locke-Ringer solution maintained at 38°C. The contractile responses were measured by a force-displacement transducer connected to polygraph recorder.

Caerulein (30~200 ng/kg i.v.) produced marked contraction of gallbladder in situ and the cholecystokinetic potencies appear in decreasing order; dog, cat and pig. The response of caerulein was abolished by the large doses of phenoxybenzamine (15 mg/kg i.v.) but not affected with dibenamine, phentolamine or tolazoline. Cholecystokinetic effect of methacholine or barium chloride was also partially inhibited by phenoxybenzamine and the effect of caerulein was weakly inhibited intravenous injection of cyclophosphamide or papaverine.

In isolated rabbit gallbladder strips, the response of contraction to caerulein were progressively inhibited by pretreatment of phenoxybenzamine along with time exposed.

These results lead to the conclusion that phenoxybenzamine may inherently inhibit the contractile response of gallbladder to caerulein, and this effect was not related with  $\alpha$ -adrenergic receptor blocking action.

### 서 론

Caerulein은 Erspamer 등<sup>1)</sup>이 호주산 개구리 *Hyla caerulea*의 피부에서 분리한 polypeptide로 Anastasi 등<sup>2)</sup>이 밝힌 바 있는 구조를 보면 아미노산조성이 gastrin, cholecystokinin-pancreozymin(CCK-PZ)과 말단 5

위까지의 배열이 똑같은 decapeptide이며 octapeptide-CCK-PZ와 비교하면 6위의 아미노산만 제외하고는 그 배열이 다를 바 없다.

따라서 caerulein의 생리작용도 gastrin 양 효과인 위액분비촉진작용과 CCK-PZ 양 효과인 췌액분비 및 담낭수축작용을 겸비하고 있으며 그외에 혈압강하작용과 위장등의 평활근 수축작용도 가지고 있다<sup>3)</sup>.

Erspamer 등<sup>4)</sup>과 Bertaccini 등<sup>5)</sup>은 caerulein의 담낭작용이 소장, 자궁등 다른 평활근장기에 비해 훨씬 우

\* 본 연구는 연세의대 교수연구비(1975년도)로 이루어졌음.

세합을 지적하고 적출담낭실험에서 소, 양, 고양이, 토끼, 해명(海溟)의 순으로 강한 수축효과를 나타내며 생체내(in situ)실험에서도 해명의 담낭이 가장 예민함을 관찰하였고 Vagne 및 Grossman<sup>6)</sup>은 개의 담낭부실험에서 caerulein 은 중량비로 CCK-PZ 보다 47배나 강하다고 지적하였다. Bertaccini 등<sup>7)</sup>은 개의 담낭조영실험으로 caerulein 은 CCK-PZ 와 같은 작용을 나타내나 그 역가가 더욱 강함을 입증하였으며 나아가 임상응용을 시도하여 건강한 사람과 담낭계질환을 가진 환자의 담낭조영실험에 있어서도 효과가 우수하며 부작용은 경미함을 보고<sup>8)</sup>하였고朴 및 洪<sup>9)</sup>은 caerulein 200~400 ng 을 성인에 정맥주사한 결과 주사후 15분에 담낭조영이 가장 축소되었고 부작용도 없었으나 20분에는 상당히 회복되고 60~120분에 정상크기로 증대됨을 관찰하여 시험식취나 CCK-PZ 주사로 인한 반응에 비하여 작용시간이 짧음을 관찰한 바 있고 Agcsti 등<sup>10)</sup>은 사람의 담낭조영시에 비강으로 투여하여도 잘 흡수된다고 하였다.

한편 caerulein 의 담낭수축작용에 대한 각종 차단제의 영향에 관한 검색도 많다. Bertaccini 등<sup>5)</sup>은 caerulein 의 해명 담낭수축효과는 atropine 에 의하여 억제되지 않고 dibenamine, hexamethonium 및 mepyramine 에 의하여 약간 억제될 뿐이라고 보고하였고 Nakayama 등<sup>12)</sup>과 Yanaura 등<sup>8)</sup>은 토끼적출담낭에서 atropine 및 tetrodotoxin 등의 영향을 받지 않음을 기술하고 趙 등<sup>14)</sup>도 phentolamine, dibenzylamine 및 propranolol 이 별 영향을 미치지 못하였다고 보고하였다.

본 교실의 Hong 등<sup>9)</sup>, 洪<sup>10)</sup>은 일찌기 무마취견에서 hexamethonium 혹은 procaine 은 외인성 CCK-PZ 의 담낭수축작용에는 직접적 영향이 없으나 내인성 CCK-PZ 의 유리기전에 관여함을 실험적으로 입증하였고 Park 등<sup>16)</sup>은 인체의 담낭조영실험으로 atropine, hexamethonium 및 procaine 이 담낭배제효과를 현저히 억압함을 제시하였으며 闕<sup>15)</sup>은 개의 생체내 실험에서 caerulein 의 담낭수축작용은 dihydroergotamine, propranolol, atropine, hexamethonium 에는 별 영향이 없으나 phenoxybenzamine 에 의하여 억제됨을 관찰한 바 있다.

이에 저자들은 caerulein 의 담낭수축작용에 대한 phenoxybenzamine 등의 영향을 더 자세히 검토하고 그 작용기전을 규명코저 수중동물을 사용하여 caerulein 의 담낭수축 반응에 대한 phenoxybenzamine 및 기타 자율신경계 차단약물의 영향을 검색하였다.

## 실험재료 및 실험방법

### A. 실험재료

실험동물은 체중 6~13 kg 의 개, 2.5~4.5 kg 의 고양이, 18~22 kg 의 돼지 및 1.5~2.5 kg 의 토끼를 사용하였고 약물은 caerulein (Farmitalia, Italy), phenoxybenzamine (Smith Klein and French Labs, Pennsylvania), dibenamine hydrochloride (Smith Klein and French Labs., Pennsylvania), phentolamine (Ciba Pharmaceutical Co., New Jersey), tolazoline hydrochloride (Anabolic Inc., California), methacholine chloride (Sigma Chemical Co., St. Louis), papaverine hydrochloride(동성제약, 서울), barium chloride (May and Baker Ltd., England), cyclophosphamida (Asta-Werke H., Germany)이었다.

### B. 실험방법

#### 1) 담낭암모사실험

동물은 secobarbital (30 mg/kg) 복강내 혹은 정맥내 주사로 마취시켜 복부중앙 절개로 개복하고 Vagne 및 Grossman<sup>6)</sup>의 방법에 준하여 실험하였다. 즉 담낭관 절찰후 담낭벽에 소결재를 가하여 polyethylene 관을 삽입 절찰하여 담낭루를 조성하고 담낭루관을 polygraph recorder (Grass model 7)에 연결하여 담낭담즙압의 변동을 묘사하였다. 약물은 고정맥을 통하여 주사하였다.

#### 2) 적출담낭절편에 대한 실험

토끼의 담낭을 적출, Amer 및 Becvar<sup>17)</sup>의 방법에 준하여 담낭절편을 작성하였다. 즉 산소가 포화된 38°C 영양액속에 담낭을 적출 즉시 넣고 그 속에서 담낭관 쪽에서부터 라선상으로 절개하여 폭 5 mm, 길이 30~40 mm 정도의 절편을 만든다. 이 절편은 38°C의 muscle chamber 에 넣고 30분 간격으로 영양액을 갈아 주면서 6시간 방치한후에 실험을 시작하였다. 영양액은 Lock-Ringer 액을 사용하였으며 담낭절편의 운동은 polygraph (Grass model 7)에 그 수축곡선을 묘기하였으며 처음 담낭절편을 매달때 장력이 0.7 g 내외가 되도록 조절하였다.

## 실험성적

### A) Caerulein 의 담낭수축작용

개에서 caerulein 30~100 ng/kg 정맥주사(i.v.)로 약

100 mmH<sub>2</sub>O의 담낭압상승이 초래되어 현저한 담낭수축작용을 나타냈고 고양이에서는 100 ng/kg i.v.로 약 80 mmH<sub>2</sub>O의 담낭압상승을, 돼지는 약하여 200 ng/kg i.v.로 약 70 mmH<sub>2</sub>O의 담낭압상승을 나타내었다.

**B) 담낭수축반응에 대한 phenoxybenzamine의 영향**

개의 caerulein에 대한 담낭수축반응은 phenoxybenzamine의 전처치로 방지되는데 phenoxybenzamine 5 mg/kg i.v.에서부터 억제반응을 나타내기 시작하여 15~20 mg/kg i.v.에서는 완전히 억제되었다. 고양이에서도 caerulein 100 ng/kg i.v.에 의한 담낭수축반응이 phenoxybenzamine 15 mg/kg i.v. 전처치로 완전히 억제되었으며(그림 1), 돼지에서는 caerulein 200 ng/kg i.v.로 인한 담낭수축반응이 phenoxybenzamine 15 mg/kg i.v. 전처치로 완전히 억제되었다.

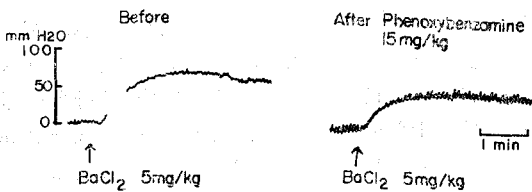


Fig. 1. Effect of phenoxybenzamine on gallbladder contraction induced by caerulein in anesthetized cat.

한편 개에서 methacholine 투여로 담낭수축반응을 나타내고 이 수축반응은 caerulein 수축반응에 비하면 미약하여 methacholine 10 μg/kg i.v.로 80 mmH<sub>2</sub>O 정도의 담낭압상승을 나타냈으나 이 담낭수축반응은 phenoxybenzamine 15 mg/kg i.v. 전처치로 약 50% 억제되었다(그림 2).

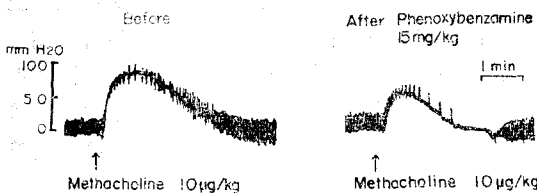


Fig. 2. Effect of phenoxybenzamine on gallbladder contraction induced by methacholine in anesthetized dog.

또 개에서 barium chloride는 미약한 담낭수축효과가 있어 5 mg/kg i.v.로 70 mmH<sub>2</sub>O의 담낭압상승을 나타냈으나 이 담낭수축반응은 phen ybenzamine 15 mg/kg i.v. 전처치로 약 30%가 억제되었다(그림 3).

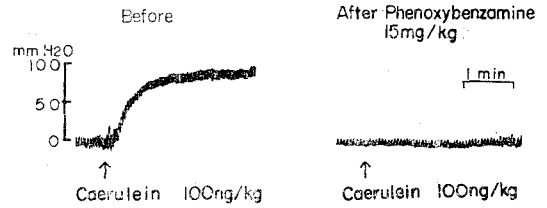


Fig. 3. Effect of phenoxybenzamine on gallbladder contraction induced by barium chloride in anesthetized dog.

**C) Caerulein의 담낭수축작용에 대한 타교감신경 α-차단제의 영향**

개에서 phenoxybenzamine 이외에 dibenamine 20 mg/kg i.v., phentolamine 10 mg/kg i.v. 및 tolazoline 5 mg/kg i.v. 등의 α-차단제의 전처치는 caerulein의 담낭수축반응에 별 영향이 없었다.

**D) Caerulein의 담낭수축작용에 대한 cyclophosphamide의 영향**

개에서 caerulein 50 ng/kg i.v.로 인한 담낭수축반응이 cyclophosphamide 20 mg/kg i.v. 전처치로 약 15% 억제되었다(그림 4).

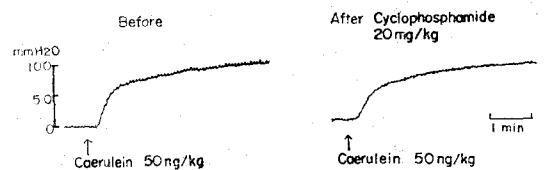


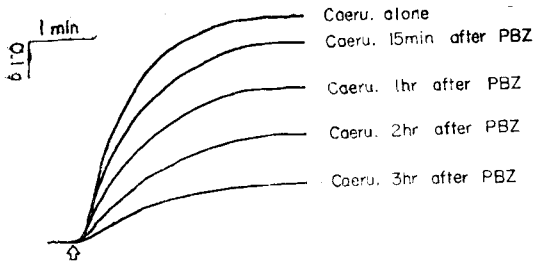
Fig. 4. Effect of cyclophosphamide on gallbladder contraction induced by caerulein in anesthetized dog.

**E) Caerulein의 담낭수축작용에 대한 papaverine의 영향**

개에서 papaverine 10 mg/kg i.v. 전처치는 caerulein 50 ng/kg i.v.로 인한 담낭수축반응을 억제하나 그 효과는 미미하였다.

**F) Caerulein의 토기 적출담낭절편 수축반응에 대한 phenoxybenzamine의 영향**

토기 적출담낭절편실험에 있어서 caerulein 10<sup>-8</sup>g/ml의 농도는 약 0.6g의 수축력을 나타냈다. 이 표본에 phenoxybenzamine 5×10<sup>-6</sup>g/ml를 전처치하여 caerulein 반응에 미치는 영향을 관찰한 결과 phenox-



**Fig. 5.** Inhibitory action of phenoxybenzamine on contraction of isolated rabbit gallbladder strip induced by caerulein.  
 Caeru: caerulein  $10^{-9}$ /ml  
 PBZ: phenoxybenzamine  $5 \times 10^{-5}$ g/ml

ybenzamine 전처치 5분후에는 caerulein 수축작용에 별 영향이 없었으나 15분후에 약 15%, 1시간후에 34%, 2시간후에 53%, 3시간후에 77%의 억제작용을 나타내어 담낭절편과 phenoxybenzamine의 접촉시간이 오래 될수록 억제효과가 강하게 나타났다(그림 5).

**고 찰**

Caerulein은 말단 6위의 threonine이 methionine으로 바뀐것뿐 octapeptide-CCK와 아미노산 배열이 같은 decapeptide이므로 생물학적작용이 CCK-PZ와 질적으로 같고 다만 역가의 차이가 있다고 알려져 있다. 즉 Vagne 및 Grossman<sup>6)</sup>은 caerulein의 담낭수축효과가 CCK-PZ에 비하여 개에서 중량비로 47배, Bertaccini 등<sup>8)</sup>은 해명에서 10배, 関<sup>15)</sup>은 토끼에서 17배, 趙<sup>14)</sup>은 토끼담낭절편에서 40배나 강함을 지적하였다.

Erspamer 등<sup>4)</sup>은 in vitro에서 양, 토끼, 해명의 순으로 caerulein의 담낭수축작용이 증강됨을 관찰하였고 Bertaccini 등<sup>5)</sup>도 caerulein의 담낭수축작용을 소, 양, 고양이, 토끼, 해명에서 비교한바 해명담낭이 제일 예민하다고 지적하였다. 개, 고양이, 돼지담낭을 사용한 본 실험에서는 caerulein의 담낭수축효과는 돼지, 고양이, 개의 순으로 증강됨을 관찰할 수 있었다.

Caerulein의 평활근 수축작용은 동물종류에 따라 또는 동일동물에서도 장기에 따라 다르다. Yanaura 등<sup>13)</sup>은 caerulein으로 인한 토끼적출 Oddi 괄약근의 수축작용이 tetrodotoxin, nicotine 전처치로 완전히 차단되거나 atropine 처치는 50% 억제만 일어나며 십이지장에 대하여서도 Oddi 괄약근과 같은 반응을 나타냈고 해명의 적출십이지장은 atropine에 의하여 영향이 없음을 관찰하였다.

Nakayama 등<sup>12)</sup>은 토끼적출담낭에서 caerulein의 수축작용은 atropine, nicotine, procaine으로 억제되지 않음을 보고 하였고 趙<sup>14)</sup>도 토끼적출담낭절편표본실험에서 caerulein의 담낭수축작용이 atropine, norepinephrine, isoproterenol, phentolamine, propranolol 및 phenoxybenzamine 등 자율신경계약물의 영향을 받지 않고 aminophylline과 papaverine에 의하여 억제됨을 관찰하여 caerulein의 작용은 자율신경계수용체와는 무관함을 시사하였다. Bertaccini 등<sup>5)</sup>은 해명에서 caerulein의 담낭수축작용은 atropine으로 억제되지 않으나 dibenamine, hexamethonium 및 mepyramine에 의하여 경하게 억제되었다고 보고 하였다.

한편 Hong 등<sup>9)</sup>과 洪<sup>10)</sup>은 개의 in vivo 실험에서 의인성 CCK-PZ의 담낭수축효과는 atropine, hexamethonium 및 procaine의 전처치로 큰 영향이 없으나 내인성 CCK-PZ의 유효를 방지하며 특히 hexamethonium과 procaine이 십이지장점막의 담낭수축자극효분비를 저지한다고 보고하였고 Park 등<sup>16)</sup>은 인체담낭의 조영실험으로 atropine, hexamethonium 혹은 procaine 전처치는 지방식(시험식)으로 인한 담낭배제작용을 현저히 지연시킴을 관찰하였다. 関<sup>15)</sup>도 개에서 caerulein의 담낭수축효과가 atropine, hexamethonium, dihydroergotamine, propranolol 등에 의하여 영향이 없었고 비교적 대량의 phenoxybenzamine 무어로 억제됨을 관찰하였다. 마취개에서 담낭수축작용을 관찰한 본 실험에서도 dibenamine, phentolamine 및 tolazoline 등의 교감신경  $\alpha$ -차단제의 전처치가 caerulein의 수축작용에 거의 영향이 없고 phenoxybenzamine으로 완전한 억제효과를 나타냈다. 이러한 사실들은 phenoxybenzamine의 담낭수축억제작용은  $\alpha$ -차단작용과는 무관한 작용이라고 생각되며 또 methacholine이나 barium chloride로 인한 담낭수축작용도 phenoxybenzamine 전처치로 어느정도 억제되며 또한 caerulein의 담낭수축작용이 papaverine 전처치로 불완전하나 억제된다는 점을 상기할때 phenoxybenzamine의 작용은 근육에 대한 직접작용과 caerulein receptor의 차단작용이 복합된 결과라 생각할 수 있다. Caerulein receptor에 대해서는 현 단계로 상상의 역을 넘지 못하고 있으나 본 교실의 金<sup>18)</sup>이 흰쥐의 십이지장관류실험에 있어서 caerulein의 취외분비항진작용이 atropine, hexamethonium, phentolamine 및 dibenamine 등의 처치로 별 영향을 받지 않고 다만 phenoxybenzamine에 의하여 의의있게 억제되었다는 보고와 아울러 생각할 때 흥미 있는 사실이라 할 수 있겠다.

Phenoxybenzamine의 화학구조를 보면 halcalkylamine 유도체로 alkylating 항암제의 구조의 공통점이 있어서 체내에서 활성인 ethyleneimmonium을 형성하여 유효하다고 추측할 수 있는데 본 실험에서도 토끼 적출담낭절편실험에 있어서 phenoxybenzamine과의 접촉시간이 길어질수록 caerulein의 수축반응이 심히 억제되어 역시 phenoxybenzamine의 caerulein 봉쇄작용도 일단 체내에서 활성형으로 변화된 후에 작용함을 뒷받침하고 있다. 그러나 같은 halcalkylamine계의  $\alpha$ -차단제인 phentolamine에는 영향이 없고 또 체내에서 ethyleneimmonium을 형성하는 alkylating 항암제인 cyclophosphamide가 caerulein의 담낭수축작용에 억제효과가 약한것은 단순히 공통적인 ethyleneimmonium의 작용이 아니라 phenoxybenzamine만의 특유한 작용이라고 생각된다.

### 결 론

마취하에서 담낭루를 작성한 수종동물과 토끼의 적출담낭절편을 사용하여 caerulein의 담낭수축효과를 검토하고 phenoxybenzamine 및 기타 자율신경차단물질을 적용하여 담낭수축기전에 대한 검색을 시도하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1) 개, 고양이 및 돼지에서 caerulein 30~200 ng/kg 정맥주사로 전형적인 담낭수축효과를 나타냈고 작용강도는 개, 고양이, 돼지의 순으로 낮아졌다.

2) 개, 고양이 및 돼지의 caerulein 자극담낭수축작용은 phenoxybenzamine (15 mg/kg) 투여로 완전히 봉쇄되었다.

3) 개에서 caerulein의 담낭수축작용은 dibenamine, phentolamine 및 tolazoline 등  $\alpha$ -차단제의 전처치로 별 영향을 받지 않았다.

4) 개에서 methacholine 및 barium chloride의 투여로 담낭수축작용을 나타냈고 이 효과는 phenoxybenzamine 전처치로 억제영향을 나타내나 경미하였다.

5) 개에서 caerulein의 담낭수축작용은 cyclophosphamide 및 papaverine 전처치로 별 영향없거나 경미한 억제효과를 나타냈다.

6) Caerulein의 토끼적출담낭절편 수축반응은 phenoxybenzamine 전처치로 억제되는데 전처치후 일정시간 경과로 억압이 증가 되었다.

(본 실험에 협력하여준 金惠英조교에게 감사한다.)

### REFERENCES

- 1) Erspamer, V., Roseghini, M., Endean, R. and Anastasi, A.: *Biogenic amines and active polypeptides in the skin of australian amphibians*. *Nature*, 212:204, 1966.
- 2) Anastasi, A., Erspamer, V. and Endean, R.: *Isolation and amino acid sequence of caerulein, the active decapeptide of skin of Hyla caerulea*. *Arch. Biochem. Biophys.*, 125:57-68, 1968.
- 3) Erspamer, V.: *Progress report: Caerulein*. *Gut*, 11:79-87, 1970.
- 4) Erspamer, V., Bertaccini, G., De Caro, G., Endean, R. and Impicciatore, R.: *Pharmacological actions of caerulein*. *Experientia*, 23:702-703, 1967.
- 5) Bertaccini, G., De Caro, G., Endean, R., Erspamer, V. and Impicciatore, M.: *The action of caerulein on the smooth muscle of the gastrointestinal tract and gallbladder*. *Br. J. Pharmacol.*, 34:291-310, 1968.
- 6) Vagne, M. and Grossman, M.I.: *Cholecystokinetic potency of GI hormones and related peptides*. *Am. J. Physiol.*, 215:881-884, 1968.
- 7) Bertaccini, G., Ballarini, G., Agosti, A. and Zenneti, G.: *Action of caerulein on the biliary system of the dog*. *Arch. Int. Pharmacodyn.*, 183:261-269, 1970.
- 8) Bertaccini, G., Braibanti, T. and Uva, F.: *Cholecystokinetic activity of the new peptide caerulein in man*. *Gastroenterology*, 56:862-867, 1969.
- 9) Hong, S.S., Magee, D.F. and Crewdson, F.: *The physiologic regulation of gallbladder evacuation*. *Gastroenterology*, 30:625-630, 1956.
- 10) 洪思奭: 담낭의 담즙배출기전에 관한 실험적연구. *最新醫學*, 3:735-748, 1960.
- 11) Agosti, A. and Bertaccini, G.: *Nasal absorption of caerulein*. *Lancet*, Vol. 1 for 1969: 580-581, 1969.
- 12) Nakayama, S., Neya, T., Tsuchiya, K., Takeda,

- M., Yamasato, T. and Watanabe, K.: *Effect of caerulein on the movements of the gastrointestinal tract and the biliary system. Pharmacometrics. 6:1163-1173, 1972.*
- 13) Yanaura, S., Hayasaka, E., Ishikawa S. and Koyama, Y.: *Effect of caerulein and gastrointestinal hormones on the biliary system. Pharmacometrics. 8:7-15, 1974.*
- 14) 趙台淳, 李宇柱, 洪思奭: 토끼담낭결편에 대한 caerulein 의 작용. 대한약리학잡지, 10:47-54, 1974.
- 15) 閔丙駿: 담즙분비와 담낭수축에 미치는 caerulein 및 자율신경계약물의 영향. 연세의대논문집, 8: 76-92, 1975.
- 16) Park, C.Y., Pae, Y.S., and Hong, S.S.: *Radio-logical studies on emptying of human gallbladder. Ann. Surg., 171:294-299, 1970.*
- 17) Amer, M.S. and Becvar, W.E.: *A sensitive in vitro method for the assay of cholecystokinin. J. Endocr., 43:637-642, 1969.*
- 18) 金惠英, 盧在烈, 趙台淳, 洪思奭: Caerulein의 흰 쥐 위외분비반응에 미치는 phenoxybenzamine 의 영향. 대한약리학잡지, 12: 89-93, 1976.
- 19) 朴昌潤, 洪思奭: 未發表.