

# Prostaglandin E<sub>1</sub>과 Acetazolamide 가 흰쥐 전혈 (全血)의 Carbonic Anhydrase 활성에 미치는 영향\*

가톨릭대학 의학부 생리학교실

박 형 진 · 조 양 혁

=Abstract=

## Effect of Prostaglandin E<sub>1</sub> and Acetazolamide upon Carbonic Anhydrase Activity of Whole Blood in Rat

Hyoung Jin Park and Yang Hyeok Jo

Department of Physiology, Catholic Medical College, Seoul 110, Korea

This study was undertaken to investigate the influence of prostaglandin E<sub>1</sub>(PGE<sub>1</sub>) upon the activity of carbonic anhydrase and upon the inhibitory action of acetazolamide on carbonic anhydrase. The heparinized blood was sampled by cardiac puncture from Sprague-Dawley strain rats under ether anesthesia and was hemolysed by adding distilled water 1,000 times the amount of the blood.

The activity of carbonic anhydrase of 0.1 ml of the hemolysate was measured by Maren's simplified micro-method. In the first experiment, the 7 rats were used, and the activity was measured by adding 0.1 ml of various concentrations of PGE<sub>1</sub>(0.5, 1.25, 2.5, 5.0, 10 and 20 µg/ml). In the second experiment, the 6 rats were used and the activity was measured by adding 0.1 ml of PGE<sub>1</sub>(5 µg/ml) and 0.1 ml of acetazolamide(6×10<sup>-7</sup>M/l) respectively or simultaneously.

Obtained results were as follows:

- 1) The activity of carbonic anhydrase was significantly inhibited by PGE<sub>1</sub> at doses of 0.5~10 µg/ml, maximally at a dose of 2.5 µg/ml, but inhibition was no more observed at a dose of 20 µg/ml.
- 2) The activity of the acetazolamide group was significantly less than that of the control group.
- 3) The activity of the PGE<sub>1</sub>+acetazolamide group was significantly less than those of the PGE<sub>1</sub> group and the acetazolamide group.

It is inferred from the above results that the PGE<sub>1</sub> inhibits the activity of carbonic anhydrase dose-dependently and strengthens the inhibitory effect of acetazolamide on carbonic anhydrase.

### 머 리 말

carbonic anhydrase 는 H<sub>2</sub>O 와 CO<sub>2</sub>가 반응하여

\* 본 논문은 1980년도 가톨릭 중앙의료원의 학술 연구비로서 이루어진 것임.

HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>과 H<sup>+</sup>이 형성되는 화학반응을 촉진시키는 촉매로서 작용함이 이미 잘 알려져 있으며(Maren, 1967), acetazolamide는 carbonic anhydrase의 활성을 억압함으로써 산을 분비하는 세포에서 산의 분비를 간접적으로 억제함이 보고되었다(Maren, 1967; Hersey & High, 1971). 한편 prostaglandin E<sub>1</sub>(PGE<sub>1</sub>)도 산의

성 적

제 1 실험

투여한 PGE<sub>1</sub>의 농도와 혈액의 carbonic anhydrase 활성억제율 사이의 관계를 제 1 도에 제시한다. carbonic anhydrase 활성억제율은 대조군의 carbonic anhydrase 활성치와 PGE<sub>1</sub>을 투여한 무리의 값의 차를 대조군의 값으로 나누어 백분율로 표시하였다.

투여한 PGE<sub>1</sub>의 농도가 0.5—10 µg/ml 일 때 carbonic anhydrase 활성억제율은 대조군의 값에 비하여 유의하게 증가하였다(모두 p<.05, Wilcoxon test). PGE<sub>1</sub>의 농도가 0.5—2.5 µg/ml 일 때에는 농도가 증가함에 따라 억제율도 점차 증가하여 2.5 µg/ml 에서 그 억제율이 최대치를 나타내었으나, 5—20 µg/ml 일 때에는 농도가 증가함에도 불구하고 억제율은 점차 감소하여 20 µg/ml 에서는 억제율이 대조군의 값에 비하여 유의한 차가 없었다. 한편 동물의 개체에 따라 최대억제율이 각각 다르며 (40.76—14.35%, 평균 26.33±9.35%), 최대억제율을 이루는 농도도 각각 상이하여 4마리에서 2.5 µg/ml 로, 3마리에서 5 µg/ml 로 각각 최대 억제율을 이루었다.

재료 및 방법

실험동물

본 교실에서 제대 사육한 Sprague-Dawley 계의 흰쥐 13마리를 사용하였다.

실험절차

ether 마취하에서 흰쥐의 심장을 천자하여 5 ml 의 혈액을 채취하였으며 (heparin 을 항응고제로 사용), 이 혈액을 증류수로 1,000배 희석하여 용혈시킴으로써 적혈구 내에 있는 carbonic anhydrase 를 노출시켰다. 상기의 용혈액 0.1 ml 를 취하여 Maren 의 방법 (Maren, 1960) 으로 carbonic anhydrase 의 활성을 측정하였다.

(1) 제 1 실험 : 흰쥐 7마리의 용혈액 0.1 ml 에 여러 농도의 (0.5, 1.25, 2.5, 5.0, 10 및 20 µg/ml) prostaglandin E<sub>1</sub> (Sigma CO.) 을 0.1 ml 씩 각각 투여하면서 carbonic anhydrase 의 활성을 측정함으로써 PGE<sub>1</sub> 의 농도에 따른 효과를 관찰하였다.

(2) 제 2 실험 : 흰쥐 6마리의 용혈액 0.1 ml 에 0.1 ml 의 PGE<sub>1</sub> (5 µg/ml) 과 acetazolamide (6×10<sup>-7</sup>M/l) 를 각각 또는 함께 투여하면서 carbonic anhydrase 의 활성을 측정하여 PGE<sub>1</sub> 이 carbonic anhydrase 에 대한 acetazolamide 의 억제 작용에 미치는 영향을 관찰하였다.

측정치의 통계적 처리 : 모든 측정치는 t test 또는 Wilcoxon matched-pairs signed-ranks test 를 이용하여 통계적으로 처리하였으며, 유의수준은 5%에 두었다.

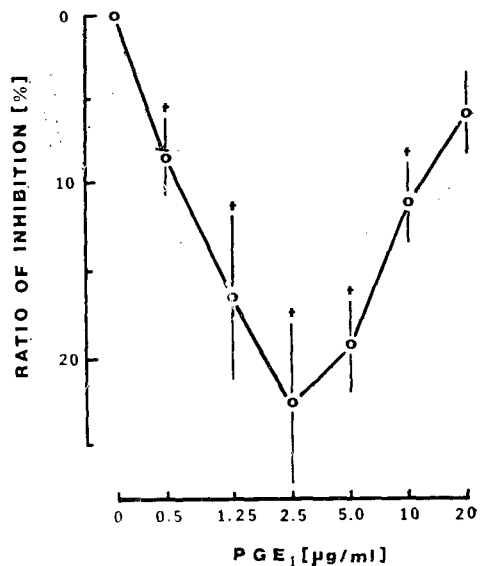


Fig. 1. Dose-dependent relationship of the ratio of inhibition of the carbonic anhydrase activity to various concentrations of PGE<sub>1</sub>. Crosses indicate the statistical significance (p<.05) over the control group. Vertical bars indicate S.E.M. Each group comprises 7 rats.

**Table 1.** Carbonic anhydrase activity of whole blood in rat in each treated group(Mean  $\pm$  S.D.)

Groups	Carbonic anhydrase activity (KU/ml)
Control	11.75 $\pm$ 0.80
PGE <sub>1</sub>	8.80 $\pm$ 0.76*
Acetazolamide	2.52 $\pm$ 0.54*
PGE <sub>1</sub> +acetazolamide	2.08 $\pm$ 0.70* <sup>***</sup>

\* The value is significantly different from that of the control group (p<.001, t test).

\*\* The value is significantly different from that of the PGE<sub>1</sub> group (p<.05, Wilcoxon test).

\*\*\* The value is significantly different from that of the acetazolamide group. (p<.05, Wilcoxon test).

제 2 실험 : 제 1 표에 PGE<sub>1</sub> (5  $\mu$ g/ml) 과 acetazolamide (6 $\times$ 10<sup>-7</sup>M/l) 를 각각 또는 동시에 투여한 무리에서 얻은 carbonic anhydrase 활성을 제시한다. 세무리 모두의 측정치는 대조군의 값에 비하여 유의하게 적었으며 (모두 p<.001, t test), PGE<sub>1</sub> 과 acetazolamide 를 동시에 투여한 무리의 측정치는 이들을 단독으로 투여한 무리의 값들에 비하여 유의하게 적었다 (모두 p<.05, Wilcoxon test).

## 고 찰

본 실험에 의하면 혈액의 carbonic anhydrase 활성은 PGE<sub>1</sub>에 의하여 억제되며, 그것도 PGE<sub>1</sub>의 농도에 따라 억제되는 정도가 다르다. 이러한 결과는 PGE<sub>1</sub>이 위점막의 세포에서 산(酸)의 분비를 억제한다는 보고들(Ramwell et al., 1968; Robert et al., 1968; Nezamis. et al., 1971; Main & Whittle, 1973; 김철들, 1980)과 잘 부합한다. 근간에 위산의 분비가 증가하는 십이지장궤양 환자의 혈액 carbonic anhydrase의 활성이 증가한다는 보고(Ahmad & Choudhury, 1976)가 있으며, 이러한 환자의 prostaglandin E 혈중치가 감소한다는 보고(Hisdale et al., 1974)가 있으나 그렇지 않다는 보고(Baker et al., 1979)도 있다. 한편 위산분비에 대하여 prostaglandin 과는 상반되는 작용을 하는 것으로 알려진 carbachol, histamine, tetragastrin 및 pentagastrin 등이 위점막의 carbonic anhydrase 활성을 촉진시킨다는 보고들이 있다(Salganik et al., 1972; Narumi & Kanno, 1973).

prostaglandin 계열이 위산의 분비를 억제하는 기전에 관한 연구가 한창이어서 이 물질이 hormone 의 세포내 전달물질인 cyclic AMP 의 생성을 조절한다는 주장이 지배적이다. cyclic AMP 는 cyclic AMP-dependent protein kinase 를 활성화 시키고, protein kinase 는 그 종류가 여러가지 이어서 어떤 것은 세포막에 존재하는 H<sup>+</sup> 분비기전에 관여하는 단백질들을 phosphorylation 시킴으로써 활성화시켜 산의 분비를 촉진시키며, 다른 종류의 protein kinase 는 carbonic anhydrase 를 활성화 시킴으로 H<sup>+</sup>의 생성을 촉진시킨다는 보고가 있다(Narumi & Miyamoto, 1974; Dousa & Dozois, 1977). Way 와 Durbin(1967)과 Soll(1978)들은 prostaglandin 이 이러한 cyclic AMP 의 생성을 억압함으로써 위산의 분비를 억제한다고 주장하였다. 그러나 Wollin 들(1976)과 Dousa 와 Dozois (1977)들은 prostaglandin 은 위점막에 존재하는 prostaglandin-sensitive cell(histamine receptor 를 가지고 있는 oxyntic cell 과는 다른 종류의 세포)에 작용하여 cyclic AMP 의 생성을 촉진시키며, 이렇게 하여 생성된 cyclic AMP 는 protein kinase 를 거쳐 산을 분비하는 세포막(histamine receptor 가 존재하는 세포)에 존재하는 H<sup>+</sup>분비 기전을 억제하거나 또는 위점막을 산이나 pepsin 으로부터 보호하는 작용을 나타낸다고 주장하였다.

본 실험에 의하면 acetazolamide 는 carbonic anhydrase 의 활성을 억제하며 PGE<sub>1</sub>과 acetazolamide 를 동시에 투여하면 acetazolamide 를 단독으로 투여한 경우보다 carbonic anhydrase 의 활성이 더 많이 억제된다. 그러므로 PGE<sub>1</sub>이 carbonic anhydrase 의 억제제로 이미 알려진 acetazolamide(Maren, 1967; HERSHEY & High, 1971)의 효과를 보강시키리라 생각된다. 그러나 혈액에는 B형과 C형의 carbonic anhydrase 가 있어서 이들은 전기영동법상의 운동성이 서로 다르며 또한 sulfonamide 에 의하여 억제되는 정도가 각기 다르기 때문에(Maren, 1967) prostaglandin 에 대하여 예민한 반응을 나타내는 carbonic anhydrase 가 별도로 존재할 가능성을 배제할 수는 없을 것 같다.

이상의 결과와 보고들을 종합하면 PGE<sub>1</sub>은 세포막에 존재하는 H<sup>+</sup>분비기전을 억압하는 일 외에도 carbonic anhydrase 의 활성을 억압함으로써 산의 분비를 억제하며, 또한 PGE<sub>1</sub>은 acetazolamide 의 carbonic anhydrase 억제 작용을 보강시키리라 추리된다.

맺 음 말

prostaglandin E<sub>1</sub>(PGE<sub>1</sub>)의 산분비 억제기전을 연구하기 위한 방법의 일환으로 PGE<sub>1</sub>이 흰쥐의 혈액 carbonic anhydrase 활성에 미치는 영향을 구명하며, acetazolamid의 carbonic anhydrase 억제 작용에 미치는 PGE<sub>1</sub>의 영향을 밝히고자 다음과 같은 실험을 실시하였다.

Sprague-Dawley 계의 흰쥐로부터 심장을 천자하여 채혈하였으며, 혈액을 1 : 1,000되게 증류수로 희석하여 용혈시켰다. 용혈액 0.1 ml를 취하여 Maren의 방법으로 carbonic anhydrase의 활성을 측정하였다.

제 1 실험에서는 7마리의 흰쥐의 용혈액에 0.1 ml의 PGE<sub>1</sub>을 농도별로(0.5, 1.25, 2.5, 5.0, 10 및 20 µg/ml) 투여하면서 carbonic anhydrase의 활성을 측정하였다. 제 2 실험에서는 6마리의 흰쥐의 용혈액에 0.1 ml의 PGE<sub>1</sub>(5 µg/ml)과 acetazolamide(6 × 10<sup>-2</sup>M/l)를 각각 단독으로 또는 함께 투여하면서 carbonic anhydrase의 활성을 측정하였다.

1. prostaglandin E<sub>1</sub>은 0.5~1.0 µg/ml 사이의 농도에서 투여한 농도에 따라 각기 다르게 carbonic anhydrase의 활성을 억제하였으며, 2.5 µg/ml에서 최대로 억제하였고 20 µg/ml에서는 억제하지 못하였다.

2. acetazolamide군의 carbonic anhydrase 활성은 대조군의 값에 비하여 유의하게 낮았다.

3. PGE<sub>1</sub>+acetazolamide군의 carbonic anhydrase 활성은 PGE<sub>1</sub>군 및 acetazolamide군의 값에 비하여 유의하게 낮았다.

이상의 결과로 미루어 보아 PGE<sub>1</sub>은 투여한 농도에 따라 각기 다르게 carbonic anhydrase 활성을 억제하며, 또한 acetazolamide의 carbonic anhydrase 억제 작용을 보강하는 것으로 추려된다.

참 고 문 헌

- 1) Maren, T.H.: *Carbonic anhydrase: chemistry, physiology, and inhibition. Physic. Rev.* 47: 595-781, 1967
- 2) Hersey, S.J. and High, W.L.: *On the mechanism of acid secretory inhibition by acetazolamide. Biochim. Biophysic. Acta* 233:604-609, 1971
- 3) Ramwell, P.W. and Shaw, J.E.: *Prostaglandin*

- inhibition of gastric secretion. J. Physiol.* 195: 34-36p, 1968
- 4) Robert, A., Nezamis, J.E. and Phillips, J.P.: *Effect of PGE<sub>1</sub> on gastric secretion and ulcer formation in the rat. Gastroenterology* 55:481-486, 1968
- 5) Nezamis, J.E., Robert, A. and Stowe, D.F.: *Inhibition by PGE<sub>1</sub> of gastric secretion in the dog. J. Physiol.* 218:369-383, 1971
- 6) Main, I.H.M. and Whittle, B.J.R.: *The effects of E and A prostaglandins on gastric mucosal blood flow and acid secretion in the rat. Br. J. Pharmacol.* 49:428-436, 1973
- 7) 김철, 김정진, 박형진 : 흰쥐의 적출한 위에서 산증과 prostaglandin E<sub>1</sub>이 위산분비에 미치는 영향 대한생리학회지, 제 14권, 1980
- 8) Maren, T.H.: *A simplified micro-method for the determination of carbonic anhydrase and its inhibitors. J. Pharmacol. Exp. Therap.* 130: 26-29, 1960
- 9) Ahmad, K. and Choudhury, S.A.R.: *Red cell carbonic anhydrase activity in duodenal ulcer. Bangladesh Med. Res. Council Bull.* 2:91-94, 1976
- 10) Hisdale, J.E., Engel, J.J. and Wilson, D.E.: *Prostaglandin E in peptic ulcer disease. Prostaglandins* 6:495-500, 1974
- 11) Baker, R., Jaffe, B.M. and Venables, C.W.: *Endogenous prostaglandins in peptic ulcer disease. Gut* 20:394-399, 1979
- 12) Salganik, R.I., Argutinskaya, S.V., and Bersimbaev, R.I.: *The stimulating action of gastrin pentapeptide, histamine and cyclic adenisine 3, 5-monophosphate on carbonic anhydrase in rat stomach. Experientia* 28:1190-1191, 1972
- 13) Narumi, S. and Kanno, M.: *Effects of gastric acid stimulants and inhibitors on the activities of HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>-stimulated, Mg<sup>++</sup>-dependent ATPase and carbonic anhydrase in rat gastric mucosa. Biochim. Biophysic. Acta* 311:80-89, 1973
- 14) Way, L. and Durbin, R.P.: *Inhibition of gastric acid secretion in vitro by prostaglandin E<sub>1</sub>. Nature* 221:874-875, 1969
- 15) Soll, A.H.: *Prostaglandin inhibition of histam-*

- ine-stimulated aminopyrine uptake and cyclic AMP generation by isolated canine parietal cells. Gastroenterology 74:1146, 1978*
- 16) Wollin, A., Code, C.F., Dousa, T.P.: *Interaction of prostaglandins and histamine with enzymes of cyclic AMP metabolism from guinea pig gastric mucosa. J. Clin. Invest. 57:1548-1553, 1976*
- 17) Dousa, T.P. and Dozois, R.R.: *Interrelationships between histamine, prostaglandins, and cyclic AMP in gastric secretion: A hypothesis. Gastroenterology 73:904-912, 1977*
- 18) Narumi, S. and Miyamoto, E.: *Activation and phosphorylation of carbonic anhydrase by adenosine 3,5-monophosphate-dependent protein kinase. Biochim. Biophysic. Acta 350:215-224, 1974*