약학회지 제38권 제2호 149~157(1994)
Yakhak Hoeji Vol. 38, No. 2

가토 위저에서 Nitric oxide에 의해 매개되는 비-아드레날린 비-콜린성 이완반응

홍승철# · 최지은 · 한석규 · 김영미 · 김남득 · 박미선 · 홍은주 · 김진보
부산대학교 약학대학

(Received January 28, 1994)

Non-adrenergic and Non-cholinergic Relaxation Mediated by Nitric Oxide in the Rabbit Gastric Fundus

Sung Cheul Hong#, Ji Eun Choi, Suk Kyu Han, Young Mi Kim, Nam Deuk Kim, Mi Sun Park, Eun Ju Hong, and Jin Bo Kim
College of Pharmacy, Pusan National University,Pusan 609-735, Korea

Abstract—The role of nitric oxide(NO) as neurotransmitter in non-adrenergic non-cholinergic (NANC) relaxation induced by electrical stimulation has been studied in circular muscle strips of the rabbit gastric fundus. In the presence of atropine and guanethidine, low frequency(1~20 Hz) and short trains (5 s) of electrical stimulation induced the frequency-dependent relaxations which were not affected by adrenergic and cholinergic blockage, but abolished by tetrodotoxin, a nerve conductance blocker. L-NNA, a stereospecific inhibitor of NO biosynthesis, inhibited the relaxations induced by electrical stimulation but not affected the relaxation to exogenous NO. The effect of L-NNA was prevented by L-arginine, the precursor of the NO biosynthesis, but not by its enantiomer, D-arginine. Exogenous administration of NO(10~100 μM) caused the concentration-dependent relaxation which showed a similarity to those obtained with electrical stimulation. Hemoglobin, a NO scavenger, abolished the NO-induced relaxations and also markedly inhibited those evoked by electrical stimulation. Application of adenosine triphosphate(1~10 μM) induced concentration-independent contractions, but in high dose caused temporary contraction followed by relaxation which was not affected by L-NNA. Exogenous vasoactive intestinal polypeptide(10~100 nM) induced the concentration-dependent relaxation, while its effects were slower in onset and more persistent than those induced by short trains and low frequencies of electrical stimulation. Based on above results, it is suggested that NO is the principal neurotransmitter of NANC nerve at relaxation induced by short trains and low frequencies of electrical stimulation in the rabbit gastric fundus.

Keywords □ Non-adrenergic non-cholinergic (NANC) relaxation, N^G-nitro-L-arginine (L-NNA), hemoglobin, nitric oxide, vasoactive intestinal polypeptide (VIP), rabbit gastric fundus.

비-아드레날린 비-콜린성(Non-adrenergic non-cholinergic; NANC)신경은 많은 음식을 먹을 때 위의 수용성 이완반응(receptive relaxation)을 매개하는 점에서 위의 조절 기능에 중요한 역할을 하리라고 추정하고 있다.[1,2] NANC신경의 전달물질로서 종래 adenosine triphosphate(ATP) 및 관련 nucleotides[3-5]와 vasoactive intestinal polypeptide(VIP)[6-9]가 위장관의 여러 부위에서 추정전달물질로서 제안되었으나, 최근 nitric oxide(NO)가 NANC신경의 신경전달매개체라는 많은 보고가 있다.[2,10,11] NO생합성억제제(N^G-monomethyl-L-arginine; L-NMMA 및 N^G-nitro-L-arginine; L-NNA 등)가 흰쥐,[12-14] 기니픽[15] 및 가토[16,17] 위저의 신경근표본에 전기적 자극을 하여 일으킨

#본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로.

NANC 이완반응을 억제한다고 하였으며, 이와 같은 현상은 다른 여러 위장관 조직에서도 관찰되었다.[2,11] 또한 개의 소장 결장 접합부[18,19] 및 흰쥐의 위저[12]에 있는 NANC신경을 자극하였을 때 NO와 성질이 비슷한 불안정한 혈관이완물질(vasorelaxant)이 유리됨을 관찰하였고, NO synthase가 흰쥐의 장근신경총[20] 및 위체[21]에서 각각 확인되었다. 또한 세포외에서 NO와 결합해서 NO를 불활성화시키는 hemoglobin[22]은 NANC 이완반응을 억제하였다.[19,23,24] 이들 결과로서 NO가 위장관에서 NANC신경의 신경전달 역할을 하리라고 추정되었다. Li와 Rand[13]는 흰쥐 위저에서 NO생합성 저해제인 L-NMMA가 짧은 전기자극이나 저빈도의 전기자극을 하였을 때 일으키는 NANC 이완반응을 더 현저하게 억제하며, VIP antibody가 지속적인 전기자극으로 일으킨 NANC 이완반응을 억제함을 관찰하고, NANC 이완반응에 NO와 VIP가 관여하리라고 추정하였으며, 최근 Grider 등[16,25]은 흰쥐 결장과 가토 위의 신경근표본, 및 위 평활근을 사용한 실험에서 NANC 이완반응에는 신경에서 유리된 VIP와 신경과 근육에서 생성된 NO가 협동적으로 관여하리라고 주장하였다.

본 실험에서는 가토 위저 전부(ventral part)에서 저빈도의 짧은 전기자극으로 일으킨 비-아드레날린 비-콜린성 이완반응과 외부에서 투여한 NO, ATP 및 VIP에 대한 이완반응을 비교하고, 이들 반응에 대한 NO생합성 저해제인 L-NNA와 세포밖에서 NO와 결합하여 불활성화시키는 hemoglobin의 영향을 검토함으로써 가토 위저의 비-아드레날린 비-콜린성 이완반응에서 NO의 역할을 밝히고저 하였다.

실험방법

위저표본의 제작 및 실험방법－가토(체중 2～3 kg)를 ether로서 마취시킨 후 경동맥을 절단하여 출혈사시키고, 위를 분리하여 위점막을 조심스럽게 제거한 다음, 식도하부를 제외한 위저(gastric fundus)의 전부의 윤상근 표본(길이 15～20 mm, 폭 2～3 mm)을 만들었다(Fig. 1). 이 표본을 Krebs 용액이 담긴 20 ml의 반응조(organ bath)에 설치한 백금선전극 사이에 장치하고, 37℃ 에서 0.7 g의 안정장력(resting tension)을 부하한 후, 실험 개시전에 90분간 방치하여 평형을

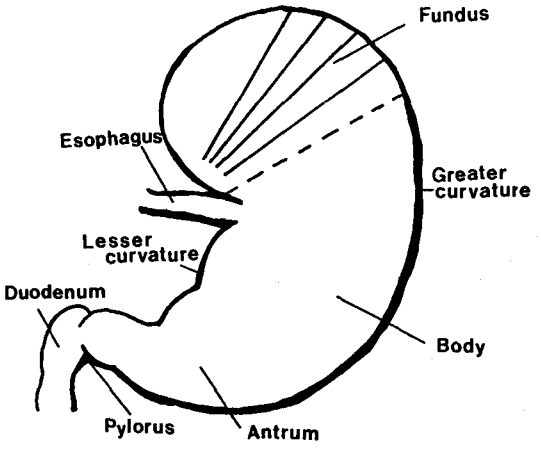

Fig. 1－Preparation of circular muscle strips of the rabbit gastric fundus. The muscle strips were prepared from ventral part of the gastric fundus except that under the esophagus.

유지시켰다. 이 방치기간 동안에 15분 마다 새로운 영양액으로서 교환하여 주었다. 등장성 장력(isometric tension)의 변화는 Narco Physiograph(MK IV)에 연결된 isometric force transducer(Narco F60)를 사용하여 기록하였다. Krebs solution의 조성(mM)은 NaCl, 118.3; KCl 4.7; $CaCl_2$, 2.5; $MgSO_4$, 1.2; KH_2PO_4, 1.2; $NaHCO_3$, 25; Ca-EDTA, 0.026 및 glucose, 11.1 (pH 7.3)이고, 이 영양액을 95% O_2와 5% CO_2의 혼합가스로 포화시켰다. 가토 위저표본은 자동적으로 장도(tone)가 상승되었으므로 이완반응을 보기위하여 장도를 상승시킬 필요가 없었다. 전기적 자극은 Fujiwara 등[5]의 방법에 따라 한쌍의 평행한 백금선전극을 통하여 자극하였다. 비-아드레날린 비-콜린성 이완반응을 일으키기 위하여 윤상근표본을 atropine(1 μM) 및 guanethidine(3 μM) 존재하에서 낮은 자극 빈도(1～20 Hz, 40 V)에서 0.5 ms 구경파로써 5초간 자극하였다. NO, ATP 또는 VIP는 각각 반응조에 직접 투여하였으며, L-NNA, tetrodotoxin, phentolamine, propranolol, hexamethonium, D-arginine 또는 L-arginine 등은 전기자극 10분 전에 각각 반응조에 투여하였고, hemoglobin은 전기자극 또는 NO 투여 10분 전에 반응조에 투여하였다.

Hemoglobin의 제조－가토의 경동맥에서 채취한 혈액 10～15 ml를 4℃ 에서 20 분간 1200 g에서 원심

분리하여 혈청과 백혈구층을 제거한 후 남아있는 적혈구를 등장성 인산완충생리식염액(isotonic phosphate-buffered saline; pH 7.4)으로써 3회 세척하였다. 세척한 적혈구 2 ml를 저장성인산완충액(hypotonic phosphate buffer) 8 ml에 넣어 용혈시킨 후, 4℃에서 40분간 20,000 g에서 원심분리하여 상등액인 용혈혈액(hemolysate)을 얻었다. 이 방법은 Bowman 및 Gillespie에 의한 방법[26]에 기초를 둔 것이다. 용혈혈액의 hemoglobin 농도는 cyanmethemoglobin법[27]에 의하여 측정하였다. 각 실험에 사용하는 hemoglobin의 최종농도는 약 30 μM이 되게하였다.

사용한 약물 및 용액－다음 약물을 실험에 사용하였다: N^G-nitro-L-arginine, L-arginine hydrochloride, D-arginine hydrochloride, VIP, bovine serum albumin, ATP(Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, U.S.A.); tetrodotoxin(Sankyo, Tokyo, Japan); atropine sulfate(Wako, Osaka, Japan); guanethidine sulfate (Tokyo-Kasei, Tokyo, Japan); phentolamine hydrochloride(Ciba-Geigy, Switzerland); propranolol(Nakarai Chemical, Japan). NO 용액은 Furchgott의 방법[28]에 따라 사용직전에 제조하였다. 약물들은 증류수에 녹이거나 희석시켰다. Tetrodotoxin(0.1 mM) 및 hemoglobin(1.3 mM)의 저장액(stock solution)은 －20℃의 냉장고에 저장하였다. 인산완충액(phosphate buffer)은 Dodge 등의 방법[29]에 따라 제조하였다: 저장액은 sodium phosphate monobasic(NaH_2PO_4) 0.155 M과 sodium phosphate dibasic(Na_2HPO_4) 0.103 M이며, 등장성인산완충액(isotonic phosphate-buffered)은 위 두 용액을 적당히 섞어서 pH 7.4에 맞춘 것이다. 저장성인산완충액(hypotonic phosphate buffer; 20 m-osmole, pH 7.4)은 등장성인산완충액을 1 : 15.5로 희석하여 만들었으며, 등장성인산완충생리식염액(isotonic phosphate-buffered saline)은 식염수(0.9% NaCl) 4 용적과 등장성인산완충액 1 용적을 혼합하여 만들었다(pH 7.4).

통계분석－평활근표본의 이완작용은 실험초에 20 Hz의 전기자극으로 일으킨 이완반응의 백분율(%)로서 표시하였다. 실험결과는 실험회수에 대한 평균치 ± S.E.M.로서 나타내었다. 모든 실험치는 Student's *t* test에 의해 분석하였다. *P*치가 0.05이하 일때 유의성이 있다고 판정하였다.

실험결과

전기 자극으로 일으킨 비-아드레날린 비-콜린성 (NANC) 이완반응－가토 위저 전부의 윤상근표본을 atropine(1 μM)과 guanethidine(3 μM)존재하에서 저빈도의 전기자극(1～20 Hz)을 가했을 때 자극빈도에 의존하는 이완반응(frequency-dependent relaxation)을 일으켰다(Fig. 2～8). 이때 일으킨 이완반응은 자

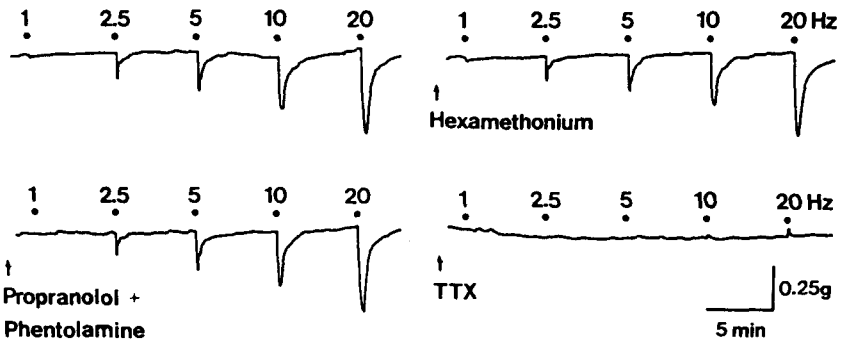

Fig. 2－Effects of hexamethonium, propranolol plus phentolamine and tetrodotoxin on the relaxations to electrical stimulation in a circular muscle strip of ventral part of the rabbit gastric fundus. The experiments were performed in the presence of atropine(1 μM) and guanethidine(3 μM). Hexamethonium(100 μM), propranolol(1 μM) plus phentolamine(10 μM) and tetrodotoxin(TTX, 0.3 μM) were added at arrow. Electrical stimulations (ES: 1～20 Hz, 0.5 ms for 5 s) were applied at dot. Tracing-breaks represent periods of tissue equilibration. Similar results were obtained from seven other experiments.

극이 끝날무렵 긴장도(tone)가 매우 빠르게 하강되었으며, 전기자극이 끝난 후 처음에는 빠르게 뒤이어서 느리게 회복되는 이상성 회복반응(biphasic recovery)을 일으켰다(Fig. 2, 3, 6~8). 이들 이완반응은 hexamethonium(100 μM)을 전처치하거나 phentolamine (10 μM) 및 propranolol(1 μM)을 전처치하였을 때 영향을 받지 않았으나, tetrodotoxin(0.3 μM)을 전처치하였을 때는 소실되었다(Fig. 2).

비-아드레날린 비-콜린성(NANC) 이완반응에 대한 L-NNA, D-arginine, L-arginine 및 hemoglobin의 영향—1~20 Hz의 자극빈도로 전기자극을 하여 얻은 NANC 이완반응은 NO 생합성 차단제인 L-NNA 10 μM을 전처치하였을 때, 저빈도인 1 Hz의 전기자극에 의한 이완반응은 소실되었으며, 보다 빠른 자극빈도(2.5~20 Hz)에서도 유의성있게 억제되었고, L-NNA 100 μM을 전처치하였을 때는 더욱 현저하게 억제되었다(Fig. 3 및 4). L-NNA의 억제작용은 NO 생합성 전구물질인 과량의 L-arginine(5 mM)을 전처치하였을 때 L-NNA 10 μM의 억제작용은 거의 완전하게 방지되었으며, L-NNA 100 μM의 억제작용도 유의성있게 부분적으로 방지되었으나, 입체적 이성체인 D-arginine(5 mM)에 의해서는 영향을 받지 않았다(Fig. 3a, 4). 또한 NANC 이완반응은 세포외에서 NO를 강력하게 포획하여 불활성화시키는 hemoglobin(30 μM)에 의해서도 억제되었다(Fig. 3b 및 5). L-NNA 및 hemoglobin을 전처치하였을 때 기본장도(basal tone)가 약

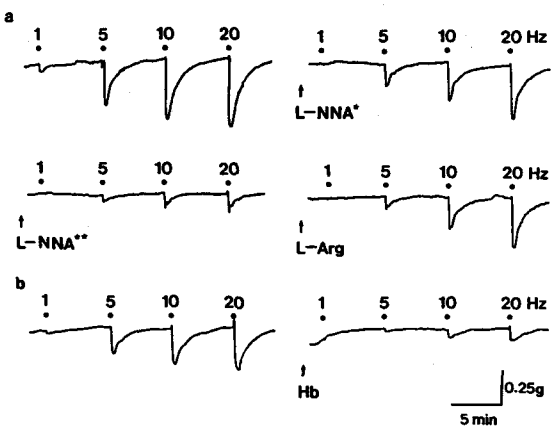

Fig. 3—Representative tracing showing the effects of N^G-nitro-L-arginine, L-arginine and hemoglobin on the relaxation to electrical stimulation in circular muscle strips of ventral part of the rabbit gastric fundus. N^G-nitro-L-arginine(L-NNA★, 10 μM, L-NNA★★, 100 μM), L-arginine(L-Arg, 5 mM) and hemoglobin(Hb, 30 μM) were added at arrow. a and b were different preparations. Other experimental conditions were the same as those described in Fig. 2.

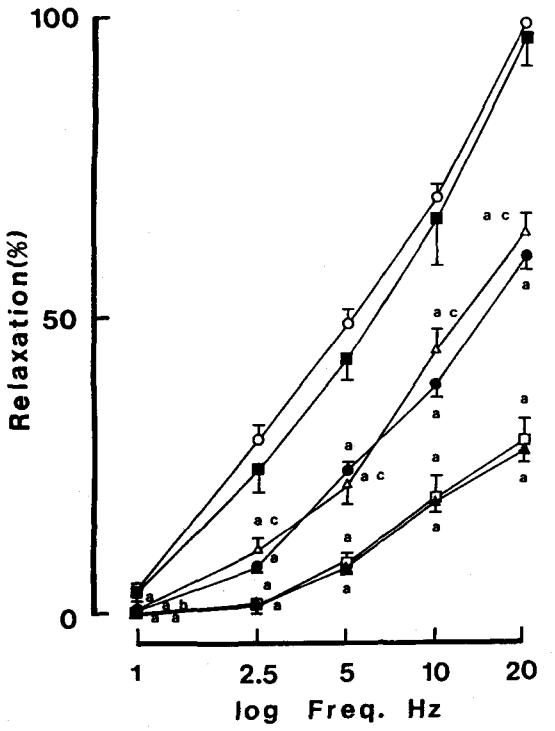

Fig. 4—Effects of N^G-nitro-L-arginine L-arginine and D-arginine on the relaxation to electrical stimulation in circular muscle strips of ventral part of the rabbit gastric fundus. ◎: control (ES), ⊙: L-NNA, 10 μM, ▲: L-NNA, 100 μM, ■: L-NNA, 10 μM plus L-arginine, 5 mM, △: L-NNA, 100 μM plus L-arginine, 5 mM, □: L-NNA, 100 μM plus D-arginine, 5 mM. Other experimental conditions were the same as those described in Fig. 2. $^aP<0.005$, different from value in control induced by electrical stimulation(1~20 Hz), student t test for paired and unpaired observations. $^bP<0.025$, $^cP<0.005$, different from value in L-NNA(100 μM)-treated muscle strips for unpaired observations. Values are means± S.E.M. of 5 to 24 experiments.

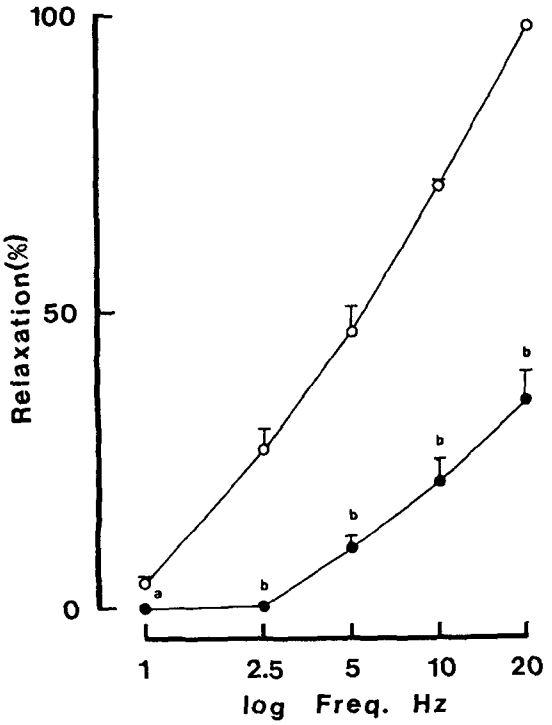

Fig. 5—Effects of hemoglobin on the relaxation to electrical stimulation in circular muscle strips of ventral part of the rabbit gastric fundus. ◎: control(ES), ●: Hb(30 μM). Other experimental conditions were the same as those described in Fig. 2. $^{a}P<0.025$, $^{b}P<0.005$, different from value in control induced by electrical stimulation(1~20 Hz), student t test for paired observations. Values are means± S.E.M. of eight experiments.

간 상승되었으나, L-arginine 및 D-arginine은 영향을 미치지 않았다(실험결과 표시하지 않았음).

외부에서 투여한 Nitric Oxide(NO)의 이완반응에 대한 L-NNA 및 hemoglobin의 영향—외부에서 NO (10~100 μM)를 투여하였을 때 전기자극(2~20 Hz)으로 일으킨 이완반응과 유사한 농도의존성 이완반응(concentration-dependent relaxation)을 일으켰다(Fig. 6a). NO의 이완반응은 전기자극으로 일으킨 이완반응에 비하여 작용개시(onset)가 약간 늦고 보다 지속적인 반응을 나타내었다. 이들 NO의 이완반응은 L-NNA(100 μM)를 전처치하였을 때 영향이 없었으나(Fig. 6b), Hemoglobin (30 μM)을 전처치하였을 때는 소실되었다(Fig. 6c).

비-아드레날린 비-콜린성 이완반응과 외부에서 투여한 ATP의 반응과의 비교—전기자극(2~20 Hz)으로 일으킨 NANC신경성 반응은 자극빈도에 의존하는

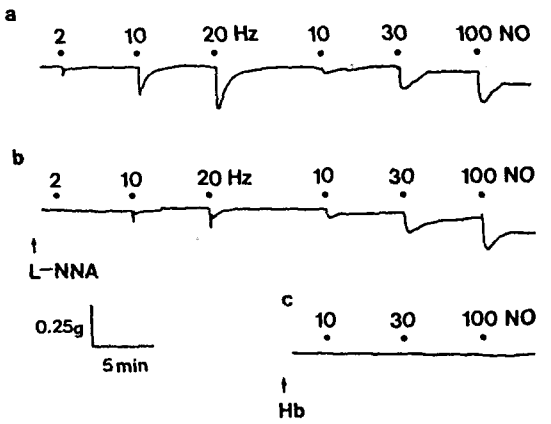

Fig. 6—Effects of N^{G}-nitro-L-arginine on the relaxations to electrical stimulation and exogenous nitric oxide in a circular muscle strip of ventral part of the rabbit gastric fundus. Nitric oxide(NO, 10~100 μM) was added at dot. N^{G}-nitro-L-arginine(L-NNA, 100 μM) and hemoglobin (Hb, 30 μM) were added at arrow, respectively. Other experimental conditions were the same as those described in Fig. 2. Similar results were obtained from five other experiments.

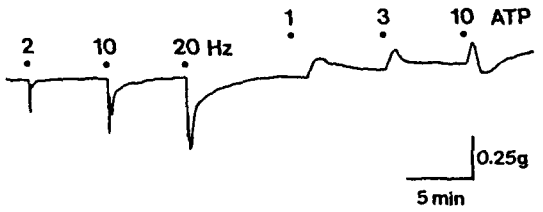

Fig. 7—Comparison of NANC relaxation with ATP-induced relaxation in a circular muscle strip of ventral part of the rabbit gastric fundus. ATP (1~10 μM) was added at dot. ATP caused concentration-independent contractions in low concentration(1~3 μM), but in high dose(10 μM) ATP tended to cause temporary contraction followed by relaxation. Other experimental conditions were the same as those described in Fig. 2. Similar results were obtained from three other experiments.

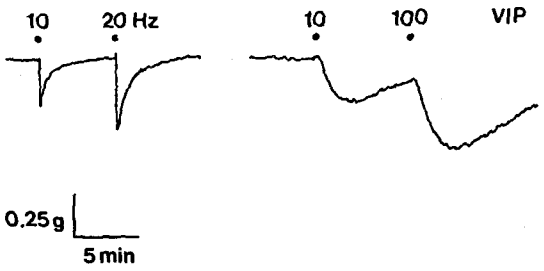

Fig. 8—Comparision of NANC relaxation with VIP-induced response in a circular muscle strip of ventral part of the rabbit gastric fundus. VIP (10~100 nM) was added at dot. Other experimental conditions were the same as those described in Fig. 2. Similar results were obtained from three other experiments.

이완반응을 일으키는 데 비하여 외부에서 투여한 ATP (1~3 μM)는 농도에 의존하지 않는 수축반응을 일으켰으며, 높은 농도(10 μM)에서는 일과성인 수축반응 후에 이완반응을 일으켰으나(Fig. 7) L-NNA(100 μM)를 전처치하였을 때 영향이 없었다(실험결과 표시하지 않았음).

외부에서 투여한 VIP의 반응과 NANC 이완반응과의 비교—VIP(10~100 nM)를 외부에서 투여하였을 때 농도의존성 이완반응을 일으켰으나, 저빈도의 전기자극(2~20 Hz)으로 일으킨 NANC 이완반응에 비하여 작용개시가 늦고 매우 지속적인 이완 반응을 일으켰다(Fig. 8).

고 찰

가토 위저 전부의 윤상근표본을 choline수용체 차단제인 atropine과 adrenaline효능성 뉴론차단제인 guanethidine존재하에서 저빈도의 전기자극을 가했을 때 자극빈도에 의존하는 이완반응을 일으켰으며, 이들 이완반응은 신경절 차단제인 hexamethonium이나 adrenaline수용체 차단제인 propranolol 및 phentolamine에 의하여 영향이 없었으나 신경전도차단제인 tetrodotoxin(0.3 μM)에 의하여 소실되었으므로(Fig. 2) 비-아드레날린 비-콜린성(NANC) 이완반응이라 사료된다.

이들 NANC 이완반응은 NO생합성 억제제인 L-NNA[30-32]를 전처치하였을 때 농도 의존적으로 억제되었으며, 이들 L-NNA의 억제효과는 NO생합성 전구물질인 L-arginine[33,34]에 의해 제거되었으나 그 입체이성체인 D-arginine에 의해서는 영향이 없었으므로(Fig. 3a 및 4) 가토 위저에서 전기자극으로 일으킨 NANC 이완반응은 NO에 의해 매개되며, L-arginine이 입체특이적인 NO전구물질이라고 사료된다. 이와 같은 NO생합성 억제제(L-NNA 및 L-NMMA 등)에 의한 NANC 이완반응의 억제작용은 주머니쥐[35,36] 및 개[37]의 식도괄약근, 흰쥐[12,13] 및 기니픽[15,38] 위저, 개의 십이지장,[39] 기니픽[24] 및 사람[40]의 소장과 개의 소장 결장 접합부[18,19,23,41] 등에서도 입증되었다.

또한 외부에서 투여한 NO의 이완반응은 전기자극으로 일으킨 NANC 이완반응과 비슷한 농도 의존성 이완반응을 일으켰으며(Fig. 6a), 이 이완반응은 L-NNA에 의해 영향을 받지않았으므로(Fig. 6b) 전기자극으로 일으킨 NANC 이완반응을 억제하는 L-NNA의 작용은 NO 합성억제작용에 의하리라고 사료된다. 외부에서 투여한 NO의 이완반응이 전기자극으로 일으킨 이완반응에 비하여 작용개시(onset)가 약간 느린 것은 NANC 신경접합부에서는 소량의 NO가 신경에서 매우 가까운 후접합부에 유리되는데 비하여, 외부에서 투여한 NO는 작용점에 도달하는 시간이 더 많이 걸리기 때문이며, 더 지속적인 이완반응을 나타내는 것은 NO의 반감기가 매우 짧기 때문에[42] 많은 양의 NO를 반응조에 주가했기 때문이라고 사료된다.[11]

한편 세포 밖에서 NO를 강력하게 포획하여 불활성화시키는 hemoglobin[22]은 외부에서 투여한 NO의 이완반응을 완전하게 소실시켰으며(Fig. 6c), 전기자극으로 일으킨 이완반응에 대해서도 현저하게 억제하였다(Fig. 3b 및 5). 이와 같이 외부에서 투여한 NO의 이완반응과 전기자극으로 일으킨 이완반응에 대한 hemoglobin의 억제효과에 차이가 있는 것은(Fig. 3b, 5, 6c), hemoglobin이 거대분자이므로 투여한 양의 일부만이 신경근접합부에 도달되거나, hemoglobin의 억제작용과 L-NNA의 억제작용이 비슷하고 이들 억제제에 의하여 억제되지 않는 부분이 남아있는 것(Fig. 3ab, 4 및 5)으로 보아 NANC 이완반응에는 NO이외의 다른 신경전달물질이 관여하였을 가능성이 추정된다.

종래 ATP가 위장관의 여러부위에서 NANC신경의 전달물질 이라는 많은 보고[3-5,43]가 있고, 전기자극에 의해 ATP가 유리된다는 보고[5,43]도 있으므로 전기자

극으로 일으킨 NANC 이완반응과 외부에서 투여한 ATP의 반응을 비교하여 보았다. 전기자극으로 일으킨 NANC 이완반응은 자극빈도에 의존하는 이완반응을 일으키는 데 비하여, 외부에서 투여한 ATP는 농도에 의존하지 않는 수축반응을 일으켰으며 고농도에서는 일과성인 수축반응 후에 이완반응을 일으켰으나, 반응의 모양이 NANC 이완반응과 닮지 않았다(Fig. 7). 따라서 ATP는 가토 위저의 NANC 이완반응을 일으키는 주된 전달물질일 가능성은 적은것으로 추정된다. 또한 ATP의 반응은 L-NNA에 의하여 영향이 없었으므로 NO생합성에는 관여하지 않으리라 사료된다.

VIP가 위장관의 여러부위에서 NANC신경의 전달물질 이라는 많은 보고[6-8,44]가 있으며, 최근 Grider 등[9,16,25,45]은 흰쥐 결장과 가토 위에서 얻은 신경근표본을 전기자극하였을 때 일으킨 이완반응시에 VIP와 NO생성이 증가되며, NO생합성 저해제인 L-NNA에 의하여 NO생성이 소실되나 VIP유리와 이완반응은 부분적으로 억제되고, 대량의 hemoglobin(100 μM)에 의한 억제작용이 L-NNA(100 μM)에 의한 억제작용에 비하여 적으며, 외부에서 투여한 VIP의 이완작용이 L-NNA에 의하여 현저하게 억제됨을 보고 NANC 이완반응에는 신경에서 유리된 VIP와 신경과 근육에서 생성된 NO가 협동적으로 관여하리라고 추정하였으며, 이 때 생성된 NO는 신경성인 것보다 유리된 VIP에 의해 근육에서 더 많이 생성된다고 주장하였다.[9,16] 또한 VIP유리가 hemoglobin에 의하여 부분적으로 억제됨을 보고 신경과 근육에서 생성된 NO가 VIP 유리에 관여하리라고 추정하였다.[9,16] 본 실험에서는 VIP (10～100 nM)를 외부에서 투여하였을 때 농도의존성 이완반응을 일으켰으나 저빈도에서 짧은 전기자극에 의하여 일으킨 NANC 이완반응에 비하여 작용개시가 늦고, 지속적인 반응을 나타내었다(Fig. 8). 이와 같이 외부에서 투여한 VIP의 이완작용은 저빈도(2～20 Hz)에서 짧은 전기자극(5 s trains)으로 일으킨 이완반응과는 반응모양이 닮지 않았으며, 저빈도의 전기자극으로 일으킨 이완반응이 신경전도차단제인 TTX에 의하여 소실되고(Fig. 2), NO생합성억제제인 L-NNA와 세포외부에서 NO와 결합하여 NO를 불활성화시키는 hemoglobin에 의하여 현저하게 억제되며, 이들 억제작용의 효력이 비슷한 점으로 보아(Fig. 3ab, 4 및 5) NO가 신경내부에서 합성된 후에 신경 밖으로 유리되어 위저의 이완반응에 주로 관여하리라고 추정되나, NANC 이완반응에 NO와 VIP의 상호관련성 여부에 대해서는 계속적인 연구가 필요하다고 사료된다.

이상의 결과로서, 가토 위저에서 저빈도의 짧은 전기자극으로 일으킨 이완반응에서 NO가 NANC 신경의 주된 신경전달물질 이라고 사료된다.

감사의 말씀

이 논문은 1993년도 부산대학교연구소학술연구조성비에 의하여 연구되었으므로 이에 감사드립니다.

문 헌

1) Abrahamsson, H.: Non-adrenergic non-cholinergic nervous control of gastrointestinal motility patterns, *Arch. Int. Pharmacodyn. Ther.* **280**(suppl.), 50 (1986).
2) Lefebvre, R. A.: Non-adrenergic non-cholinergic neurotransmission in the proximal stomach, *Gen. Pharmac.* **24**, 257 (1993).
3) Burnstock, G.: Purinergic nerves, *Pharmacol. Rev.* **24**, 509 (1972).
4) Burnstock, G.: Neurotransmitters and trophic factors in the autonomic nervous system, *J. Physiol.* **313**, 1 (1981).
5) Fujiwara, M., Hong, S. C. and Muramatsu, I.: Effects of goniopora toxin on non-adrenergic non-cholinergic response and purine nucleotide release in guinea-pig taenia coli, *J. Physiol.* **326**, 515 (1982).
6) Fahrenkrug, J.: Vasoactive intestinal polypeptide: Measurement, distribution and putative neurotransmitter function, *Digestion.* **19**, 149 (1979).
7) Grider, J. R., Cable, M. B., Said, S. I. and Makhlouf, G. M.: Vasoactive intestinal peptide as a neural mediator of gastric relaxation, *Am. J. Physiol.* **248**, G73 (1985).
8) Grider, J. R. and Makhlouf, G. M.: Prejunctional inhibition of vasoactive intestinal peptide release, *Am. J. Physiol.* **253**, G7 (1987).
9) Makhlouf, G. M. and Grider, J. R.: Nonadrenergic noncholinergic inhibitory transmitter of the gut, *NIPS.* **8**, 195 (1993).

10) Rand, M. J.: Nitrergic transmission: Nitric oxide as a mediator of non-adrenergic non-cholinergic neuroeffector transmission, *Clin. Exp. Pharmac. Physiol.* **19**, 147 (1992).
11) Sanders, K. M. and Ward, S. M.: Nitric oxide as a mediator of nonadrenergic noncholinergic neurotransmission, *Am. J. Physiol.* **262**(Gastrointest. Liver Physiol. 25), G379 (1992).
12) Boeckxstaens, G. E., Pelckmans, P. A., Bogers, J. J., Bult, H., De Man, J. G., Oosterbosch, L., Herman, A. G. and Van Maercke, Y. M.: Release of nitric oxide upon stimulation of nonadrenergic noncholinergic nerves in the rat gastric fundus, *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **256**, 441 (1991).
13) Li, C. G. and Rand, M. J.: Nitric oxide and vasoactive intestinal polypeptide mediate non-adrenergic, non-cholinergic inhibitory transmission to smooth muscle of the rat gastric fundus, *Eur. J. Pharmacol.* **191**, 303 (1990).
14) Shimamura, K., Fujiwara, A., Toda, N. and Sunano, S.: Effects of N^G-nitro-L-arginine on electrical and mechanical responses to stimulation of non-adrenergic, non-cholinergic inhibitory nerves in circular muscle of the rat gastric fundus, *Eur. J. Pharmacol.* **231**, 103 (1993).
15) Lefebvre, R. A., Baert, E. and Barbier, A. J.: Influence of N^G-nitro-L-arginine on nonadrenergic noncholinergic relaxation in the guinea-pig gastric fundus, *Br. J. Pharmacol.* **106**, 173 (1992).
16) Jin J-G. and Grider, J. R.: Stoichiometry of VIP release and NO production during electrical field stimulation(EFS) of gastric smooth muscle(Abstract), *Gastroenterology.* **104**, A529 (1993).
17) Zimmerman, T., Martin, J. S., Parkman, H. P. & Ryan, J. P.: Lack of evidence for vasoactive intestinal polypeptide(VIP) involvement in relaxation of rabbit gastric fundus, *Gastroenterology.* **104**, A1069 (1993).
18) Boeckxstaens, G. E., Pelckmans, P. A., Rutytjens, I. F., Bult, H., De Man, J. G., Herman, A. G. and Van Maercke, Y. M.: Bioassay of nitric oxide released upon stimulation of non-adrenergic non-cholinergic nerves in the canine ileocolobic junction, *Br. J. Pharmacol.* **103**, 1085 (1991).
19) Bult, H., Boeckxstaens, G. E, Pelckmans, P. A., Jordaens, F. H., Van Maercke Y. M. and Herman, A. G.: Nitric oxide as an inhibitory non-adrenergic non-cholinergic neurotransmitter, *Nature.* **345**, 346 (1990).
20) Bredt, D. S., Hwang, P. M. and Snyder, S. H.: Localization of nitric oxide synthase indicating a neural role for nitric oxide, *Nature.* **347**, 768 (1990).
21) Forster, E. R. and Southam E.: Location of nitric oxide synthase in rat gastric corpus, *Reg. Pept.* **40**, 146 (1992).
22) Martin, W., Villani, G. M., Jothianandan, D. and Furchgott, R. F.: Selective blockade of endothelium-dependent and glyceryl trinitrate-induced relaxation by hemoglobin and by methylene blue in the rabbit aorta, *J. Pharmcol. Exp. Ther.* **232**, 708 (1985).
23) Boeckxstaens, G. E., Pelckmans, P. A., Bult, H., De Man, J. G., Herman, A. G. and Van Maercke, Y. M.: Non-adrenergic non-cholinergic relaxations mediated by nitric oxide in the canine ileocolonic junction, *Eur. J. Pharmacol.* **190**, 239 (1990).
24) Osthaus, L. E. and Galligan, J. J.: Antagonists of nitric oxide synthesis inhibit nerve-mediated relaxations of longitudinal muscle in guinea pig ileum, *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **260**, 140 (1992).
25) Grider, J. R.: Interplay of VIP and nitric oxide in regulation of the descending relaxation phase of peristalsis, *Am. J. Physiol.* **264**.(Gastrointest. Liver, Physiol. 27), G334 (1993).
26) Bowman, A. and Gillespie, J. S.: Block of some non-adrenergic inhibitory response of smooth muscle by a substance from hemolysed erythrocytes, *J. Physiol.* **328**, 11 (1982).
27) Simmons, A.: *Technical hematology*, 2nd ed.(J.B. Lippincott company, Philadelphia and Toronto) p7 (1976).
28) Furchgott, R. F.: Studies on relaxation of rabbit aorta by sodium nitrite: The basis for the proposal that the acid-activatable inhibitory factor from bovine retractor penis is inorganic nitrite and the endothelium-derived relaxing factor is nitric oxide. Vasodilation: *Vascular smooth muscle, Peptides, Autonomic nerves and Endothelium,* ed. P. M. Vanhou-

tte(Raven Presses, New York) p.401 (1988).

29) Dodge, J. T., Mitchell, C. and Hanahan, D. J.: The preparation and chemical characteristics of hemoglobin-free ghosts of human erythrocytes, *Biochem. Biophys. Acta.* **100**, 119 (1963).

30) Ishii, K. B., Chang, B., Kerwin, J. F. Jr, Huang, Z. J. and Murad, F.: Nω-nitro-L-arginine: a potent inhibitor of endothelium-derived relaxing factor formation, *Eur. J. Pharmacol.* **176**, 219 (1990).

31) Moore, P. K., Al-Swayeh, O. A., Chong, N. W. S., Evans, R. A. and Gibson, A.: L-N^G-nitroarginine(L-NOARG), a novel L-arginine-reversible inhibitor of endothelium-dependent vasodilatation in vitro, *Br. J. Pharmacol.* **99**, 408 (1990).

32) Mülsch, A. and Busse, R.: N^G-nitro-L-arginine(N^G-[imino-(nitroamino) methyl]-1-ornithine) impairs endothelium-dependent dilatation by inhibiting cytosolic nitro oxide synthesis from L-arginine, *Naunyn-Schmiedebergs Arch. Pharmacol.* **341**, 143 (1990).

33) Palmer, R. M. J., Ashton, D. S. and Moncada, S.: Vascular endothelial cells synthesize nitric oxide from L-arginine, *Nature.* **333**, 664 (1988).

34) Schmidt, H. H. H. W., Nan, H., Wittfoht, W., Gerlach, J., Prescher, K.E., Klein, M. M., Niroomand, F. and Bohme, E.: Arginine is a physiological precusor of endothelium-derived nitric oxide, *Eur. J. Pharmacol.* **154**, 213 (1988).

35) Murray, J., Ledlow, A., Bates, J. N. and Conklin, J. L.: Nitric oxide: mediator of nonadrenergic noncholinergic responses of opossum esophageal muscle, *Am. J. Physiol.* **261**(Gastrointest. Liver Physiol. 24), G401 (1991).

36) Tøttrup, A., Svane, D. and Forman, A.: Nitric oxide mediating NANC inhibition in opossum lower esophageal sphincter, *Am. J. Physiol.* **260**(Gastrointest. Liver Physiol. 23), G385 (1991).

37) De Man, J. G., Pelckmans, P. A., Boeckxstaens, G. E., Bult, H., Oosterbosch, L., Herman, A. G. and Van Maercke, Y. M.: The role of nitric oxide in inhibitory non-adrenergic non-cholinergic neurotransmission in the canine lower oesophageal sphincter, *Br. J. Pharmacol.* **103**, 1092 (1991).

38) Hong, S. C., Kim, M. W., Park, M. S., Choi, J. E., Hong, E. J. and Kim, J. B.: The role of nitric oxide in non-adrenergic non-cholinergic relaxation in guinea-pig gastric fundus (*in contribution*).

39) Toda, N., Tanobe, Y. and Baba, H.: Suppression by N^G-nitro-L-arginine of relaxations induced by non-adrenergic, non-cholinergic nerve stimulation in dog duodenal longitudinal muscle, *Japan. J. Pharmacol.* **57**, 527 (1991).

40) Maggi, C. A., Barbanti, G., Turini, D. and Giuliani, S.: Effect of N^G-monomethyl L-arginine(L-NMMA) and N^G-nitro L-arginine(L-NOARG) on non-adrenergic non-cholinergic relaxation in the circular muscle of the human ileum, *Br. J. Pharmcol.* **103**, 1970 (1991).

41) Ward, S. M., Mckeen, E. S. & Sanders, K. M.: Role of nitric oxide in non-adrenergic non-cholinergic inhibitory junction potentials in canine ileocolonic sphinctor, *Br. J. Pharmacol.* **105**, 776 (1992).

42) Palmer, R. M. J., Ferrige, A. G. & Moncada, S.: Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor, *Nature.* **327**, 524 (1987).

43) Burnstock, G., Cocks, T., Kasakov, L. and Wong, K.: Direct evidence for ATP release from non-adrenergic, non-cholinergic('purinergic') nerves in the guinea-pig taenia coli and bladder, *Eur. J. Pharmacol.* **49**, 145 (1978).

44) Grider, J. R.: Identification of neurotransmitters by selective protection of postjunctional receptors, *Am. J. Physiol.* **258**, G103 (1990).

45) Jin J-G., Murthy, K. S., Grider, J. R. and Makhlouf, G. M.: Activation of distinct cAMP and cGMP-dependent pathways by relaxant agents in isolated gastric muscle cells, *Am. J. Physiol.* **264**(Gastrointest. Liver Physiol. 27) G470 (1993).