

Phenylethanolamine N-methyltransferase: 부신, 뇌간, 시상하부 효소의 조절

서울대학교 의과대학 약리학교실

전 양 숙 · 서 유 현

=Abstract=

Phenylethanolamine N-methyltransferase: Regulation of the Enzyme in Adrenal Gland, Brain Stem and Hypothalamus

Yang-Sook Chun and Yoo-Hun Suh

*Department of Pharmacology, College of Medicine,
Seoul National University, Seoul 110-799, Korea*

To determine the regulatory mechanism of phenylethanolamine N-methyltransferase (PNMT) in the adrenal gland and in central nervous system, we observed the change of enzyme activity and mRNA level of PNMT in the adrenal gland, the brain stem, and hypothalamus of rats, which were injected with two neuroleptic agents(reserpine and haloperidol).

Reserpine depleting catecholamines in presynaptic vesicle increased PNMT activities in the adrenal gland and the brain stem to 150% of the control in time-dependent manner, but not in the hypothalamus. Haloperidol blocking dopamine receptor decreased PNMT activities in the adrenal gland and the hypothalamus, but not in the brain stem.

Thus, the results indicate that catecholamines inhibit synthesis of epinephrine in the brain stem and the adrenal gland, and that dopamine stimulates synthesis of epinephrine in the hypothalamus and the adrenal gland. In addition, since the change of mRNA levels were nearly in accordance with the change of activities, the transcriptional regulation of PNMT is considered the mechanism of the regulation of epinephrine neuron.

Key Words: Phenylethanolamine N-methyltransferase, Adrenal gland, Brain stem, Hypothalamus

서 론

에피네프린은 카테콜아민의 일종으로 부신수질의 크로마핀 세포에 존재하며 스트레스 자극시 다량이 분비되어 대사조절 호르몬으로 작용한다. 그

러나 에피네프린이 미량이나마 뇌조직에 존재함이 밝혀지면서(Hokfelt 등, 1984), 에피네프린이 중추신경계에서 신경전달물질로 작용할 가능성이 있다는 주장이 나오고 있다. 에피네프린이 신경전달물질로서 어떠한 기능을 수행하는지 알려진 바가 매우 적지만, 근자에 들어 에피네프린이 뇌하수체에

서 leutenizing hormone(Crowley and Terry, 1981)이나 corticotropin(Spinedi등, 1988)의 분비를 조절할 가능성이 있다고 보고되었다. 뿐만 아니라, 에피네프린이 혈압 조절에도 관여한다는 보고들이 있어서 에피네프린이 고혈압 발생기전과도 관련이 있을 것으로 여겨지고 있다(Saavedra등, 1980; Wijnen등, 1977; Petty and Reid, 1979; Routledge and Marsden, 1987). 이외에도, 스트레스에 대한 생리적 변화에 신경전달물질인 에피네프린이 중요한 역할을 하리라 여겨진다(Kvetnansky등, 1978; Saavedra, 1979).

Phenylethanolamine N-methyltransferase(PNMT)는 에피네프린 합성의 최종단계를 촉매하는 효소로 이 효소의 활성에 의해 에피네프린 합성속도가 결정된다. 따라서 이 효소의 활성 변화는 곧 에피네프린의 생성량과 직결되므로, 이 효소 활성의 조절 기전은 에피네프린 신경세포의 활동에 많은 영향을 미치게 된다. 이 효소 활성의 조절 기전에 대해서 부신에서는 많이 연구된 바 있다. 부신에서 에피네프린은 내분비 조절과 신경 조절 두 가지 기전에 의해 조절된다. 내분비 조절로는 corticosteroid에 의한 PNMT 활성 증가가 있고(Wurtman and Axelord, 1966), 신경 조절로는 splanchnic nerve를 통한 PNMT 활성 증가가 있다(Roland and Ira, 1971). 그러나 아직 부신 PNMT의 조절기전에 있어 불분명한 부분이 많이 남아 있다. 또한 중추신경계에서의 PNMT 조절기전에 대해서는 아직까지 거의 알려진 바가 없다.

부신 및 중추신경계에서의 에피네프린 조절에 카테콜아민신경이 관여할 지도 모른다는 가능성을 이끌어 내는 몇 가지 보고들이 있다. 즉, 카테콜아민신경 차단제인 reserpine은 부신에서 PNMT를 증가시키며(Zigmond and Bowers, 1981; Lima등, 1986), 도파민 길항제인 haloperidol은 중추신경에 작용하여 혈압을 강하시킨다(Baldessarini, 1985). 이러한 보고들로부터, 혈압조절에 관여하리라 생각되는 중추 에피네프린 신경에 이들 약물이 영향을 미칠 가능성을 추론할 수 있다. 따라서 본 연구에서는 카테콜아민신경에 작용하는 약물인

reserpine과 haloperidol을 약리학적 도구로 이용하여 부신과 중추 PNMT 효소의 조절양상을 살펴보고 이로부터 조절기전의 일단을 추정코자 하였다.

재료 및 방법

1) 재료

Reserpine, haloperidol, S-adenosylmethionine, norepinephrine, heparin들은 Sigma 제품을 사용하였으며 [^3H]S-adenosylmethionine, (α - ^{32}P) dATP (3000Ci/mmol)들은 New England Nuclear 제품을 사용하였고, scintillation cocktail은 Lipoluma (Lumac)를 사용하였다.

제한효소와 random prime-labeling kit는 Boehringer Mannheim 제품을 사용하였다. Oligo (dT)-cellulose는 Collaborative Research 제품을, Nitrocellulose filter는 Bio-Rad 제품을 사용하였다. 기타 일반적인 분석용 시약은 Sigma, Merck, Aldrich사 제품을 사용하였다.

Liquid scintillation analyzer로는 Packard Tri-carb을, Hybri-SlotTM manifold는 BRL 제품을 이용하였으며, autoradiograph는 Amersham Digital Autoradiographic System을 이용하여 정량하였다.

2) 방법

(1) PNMT 활성 측정: 흰쥐를 경부탈골시켜 치사시킨 다음, 즉시 얼음판 위에서 뇌와 부신을 적출하여, 뇌조직에서는 뇌간과 시상하부를 떼어내고 부신은 주위의 지방조직을 제거한 후 즉시 액체질소에 보관하였다. 적출한 각 조직은 0.2 M Tris/HCl(pH 8.6), 5 mM EDTA, 0.05% Triton-X 100을 포함한 완충용액과 함께 잘 분쇄한다음, 4°C, 8000 g에서 15분간 원심분리하여 상층액을 취하였다. 여기에 활성알루미늄(200 mg)를 넣어 효소활성 측정에 저해요인이 될 수 있는 내인성(endogenous) 카테콜아민을 흡착시키고 4°C에서 5분간 3000 g로 원심분리하였다. 일정량의 상

층액을 취하여 PNMT 활성의 시료로 사용하였다.

PNMT 활성은 Michael등(1988)의 방법을 변형하여 측정하였다. 반응액은 Tris/HCl이 200 mM 이 되도록 하고, 기질로는 노르에피네프린이 10 μ M, 3 H S-adenosylmethionine은 3 μ M이 되도록 하여 잘 혼합한 후 37°C에서 30분간 항온진탕하였다. 반응이 끝난 후 차가운 5 mM EDTA를 포함한 0.2 M Tris/HCl(pH 8.6) 완충액을 첨가하여 반응을 중단시켰다. 즉시 여기에 활성알루미늄 100 mg을 넣어 5분간 진탕한 후, 차가운 증류수 10 ml를 넣고 10초간 vortexing하였다. 3000 g에서 2분간 원심분리하여 상층액을 제거하였다. 이렇게 증류수로 세척하는 과정을 4회 반복하였다. 상층액을 깨끗이 제거한 후, 1 ml의 0.1 M perchloric acid를 넣고 shaking한 다음 5 ml의 n-butanol을 넣고 다시 5분간 shaking하였다. 3000 g에서 5분간 원심분리하여 상층액을 4 ml 취하고 ethanol 1 ml와 cocktail 10 ml을 넣어 잘 혼합한 뒤 scintillation counter를 이용해서 에피네프린의 생성량을 측정하였다. 단백질 정량은 Lowry (1951) 방법으로 측정하였다.

(2) Reserpine과 Haloperidol의 투여방법:

실험 동물로는 체중 150~200 g의 음성 Sprague-Dawley계 흰쥐를 사용하였다. Reserpine은 5 mg/kg 용량으로, haloperidol은 10 mg/kg 용량으로 18시에 복강주사하였다. 이들 약물에 대한 급성반응을 관찰하기 위해서 약물 주사 후 6시간이 되는 시점에서 흰쥐를 경부탈골시켜 치사시켰으며, 아 급성반응을 관찰하기 위해서 매일 1회씩 4일간 약물을 주사한 후 6시간이 지난 시점에서 흰쥐를 치사시켰다.

(3) PNMT mRNA 정량(slot blot analysis):

대조군(15마리)과 약물투여군(15마리) 흰쥐로부터 적출한 시상하부, 뇌간, 부신으로부터 acid guanidium thiocyanate-phenol-chloroform 추출 방법(Chomczynski등, 1987)에 따라 Total RNA를 추출하였다. Oligo(dT)-cellulose chromatography(Aviv등, 1972)를 이용하여 poly(A)+ RNA를 정제하였다. 각 조직으로부터 추출한 mRNA를

일정량씩 취하여 20 X SSC buffer(3 M NaCl, 0.3 M sodium citrate, pH 7.0)를 90 μ l 넣은 후 microfold dot slot 장치를 이용하여 nitrocellulose membrane에 점적하였다. Nitrocellulose membrane을 80°C 진공하에서 2시간 baking한 후 prehybridization solution(50% deionized formamide, 1 M NaCl, 50 mM NaH₂PO₄, pH 7.5, 5 mM EDTA, 100 g/ml denatured salmon sperm DNA)에 넣어 42°C에서 24시간 동안 배양하여 probe의 비특이적인 핵산결합을 차단한 후, 방사선 동위원소(32 P)가 DNA 1 μ g 당 1×10^8 cpm의 specific activity정도로 표지된 rat PNMT cDNA probe를 hybridization 용액 ml 당 5×10^5 cpm 정도 되도록 넣고 42°C에서 20시간 이상 hybridization시켰다. 이후 nitrocellulose membrane을 1 X SSC/0.1% SDS와 0.1 X SSC/0.1%

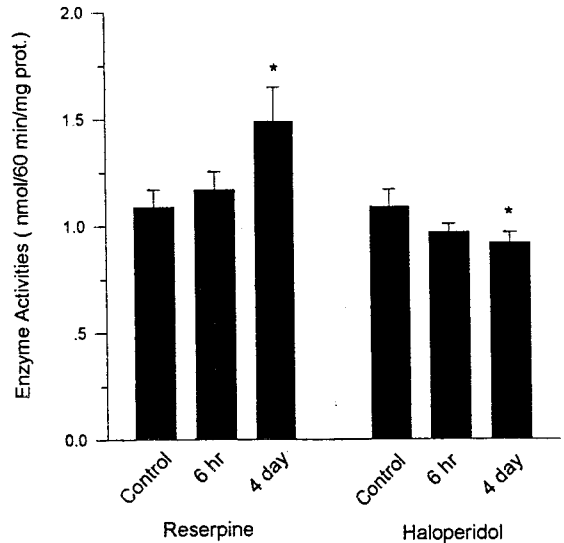


Fig. 1. Effects of reserpine and haloperidol on PNMT activity in rat adrenal gland. Rats in the control were injected daily with saline solution(0.5 ml) for 4 days in place of drugs. Adrenal glands were excised 6 hr after a single i.p. injection of a drug, or after four repeated daily injection. Each bar represents mean \pm SD of six rats. * $p < 0.05$ vs. the control by unpaired t-test.

SDS로 각각 실온과 55°C에서 15분씩 세 번 세척한 다음 -70°C에서 적당시간 동안 Kodak XAR-5 film에 노출시켰다.

결 과

1) 부신 PNMT의 효소활성

Reserpine 투여 6시간에는 미약하게 부신 PNMT 활성이 증가하는 양상을 띄었으며, reserpine의 4일에는 PNMT 활성이 뚜렷이 증가하여 대조군 효소활성의 142%에 달하였다(mean \pm SD; 1.49 ± 0.16 vs. 1.09 ± 0.08 nmol/60 min/mg prot., $p < 0.01$)(Fig. 1). 그러나 이와 반대로 haloperidol은 투여기간에 비례하여 부신 PNMT 활성을 감소시켰다(0.92 ± 0.05 , $p < 0.05$)(Fig. 1).

2) 뇌간 PNMT의 효소활성

뇌간에서는 reserpine은 투여기간에 비례하여 PNMT 활성을 증가시키어, 약물투여 4일에는 효

소활성이 대조군의 151%에 달하였다(17.18 ± 1.70 vs. 11.39 ± 1.38 pmol/60 min/mg prot., $p < 0.01$)(Fig. 2). 그러나 haloperidol은 초기에 효소활성을 약간 증가시키기는 하였으나 투여 4일에는 대조군과 같은 수준으로 효소활성이 감소하였다(Fig. 2).

3) 시상하부 PNMT의 효소활성

시상하부의 PNMT 활성은 reserpine의 영향을 전혀 받지 않았으나, haloperidol 투여 4일에는 PNMT 활성이 20% 감소하였다(16.52 ± 1.83 vs. 20.52 ± 2.82 pmol/60 min/mg prot., $p < 0.05$)(Fig. 3).

4) Reserpine과 haloperidol 투여에 의한 PNMT 유전자 발현 양상

15마리의 흰쥐로부터 적절한 부신, 뇌간, 시상하부를 조직별로 모아서 mRNA를 분리한 후 mRNA의 용량별로 slot-blotting을 동일한 시간과

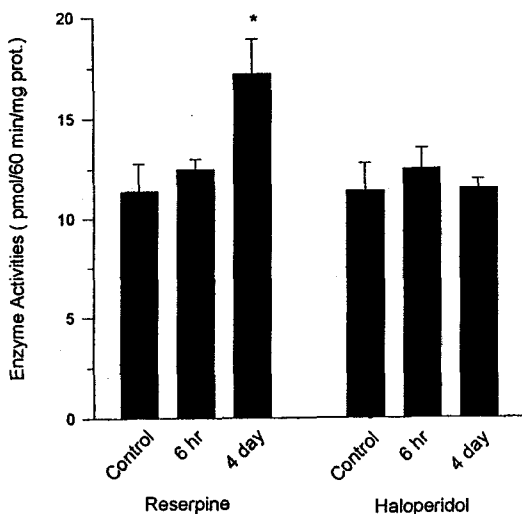


Fig. 2. Effects of reserpine and haloperidol on PNMT activity in rat brain stem. The control and experimental groups were the same to those in Fig. 1. Each bar represents mean \pm SD of six rats. * $p < 0.05$ vs. the control by unpaired t-test.

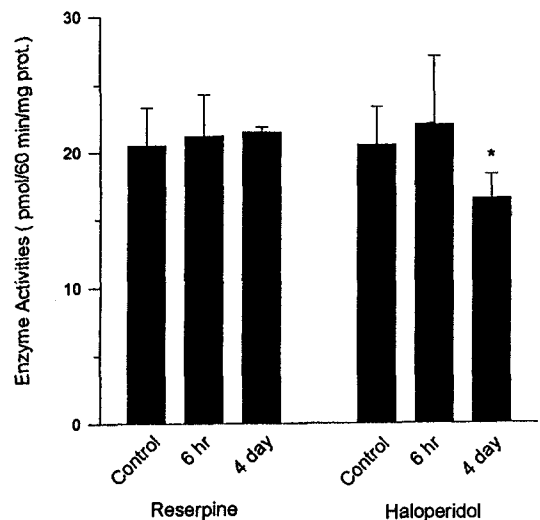


Fig. 3. Effects of reserpine and haloperidol on PNMT activity in rat hypothalamus. The control and experimental groups were the same to those in Fig. 1. Each bar represents mean \pm SD of six rats. * $p < 0.05$ vs. the control by unpaired t-test.

조건하에서 시행하였다. autoradiograph의 optical density를 blotting 면적으로 적분한 값을 optical intensity로 표시하여 autoradiograph상에 나타난 blot을 정량화하였다. 실험 결과 모든 조직에서 mRNA의 용량과 optical intensity간에 원점을 지나는 직선 관계식이 성립하였으며($r=0.98$, Fig. 4), 이 직선식이 성립하는 mRNA의 용량 범위는 $0.25 \sim 1.25 \mu\text{g}$ 이었다. 따라서 이 용량 범위의 중간 값인 $0.6 \mu\text{g}$ 을 점적 용량으로 결정하였다.

부신의 PNMT mRNA 발현은 reserpine에 의해 시간의존적으로 증가하여 투여 4일에는 대조군보다 65% 증가하였으며, haloperidol에 의해 투여 6시간에 36% 억제되어 투여 4일까지 그 효과가 지속되었다(Fig. 5). 이 결과는 PNMT 활성 변화와 일치하는 것으로 부신에서 약물들이 PNMT 유전자의 transcription을 조절하여 PNMT 활성이 변화되었음을 시사한다. 뇌간에서 Haloperidol은

PNMT mRNA 발현에 별 영향을 주지 않았으나, reserpine에 의해 mRNA 발현이 시간의존적으로 억제되어 투여 4일에는 30% 억제되었다(Fig. 6). 이는 효소활성 변화(60% 증가)와 상이한 결과로, 활성 증가에 transcription 조절 외의 다른 기전이 관여함을 시사한다. 시상하부에서는 reserpine은 효과가 없었고 haloperidol은 PNMT mRNA 발현을 감소시키는 효과가 있었다(Fig. 7). 그러므로 이러한 결과는 시상하부에서의 haloperidol에 의한 효소활성 증가가 transcription 증가에 의한 결과임을 시사한다.

고찰 및 결론

부신에서의 에피네프린 생성을 조절하는 기전으로는 호르몬성 조절과 신경성 조절 두 가지가 알려져 있다(Pohorecky and Wurtman, 1968; Ro-

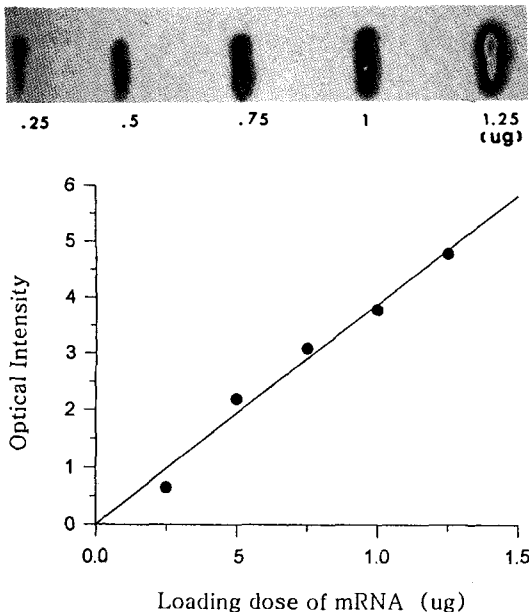


Fig. 4. Relationship between optical intensity and loading amount of mRNA from rat adrenal gland. Optical intensity of autoradiograph is defined as described in Results. The correlation coefficient(r) is 0.98.

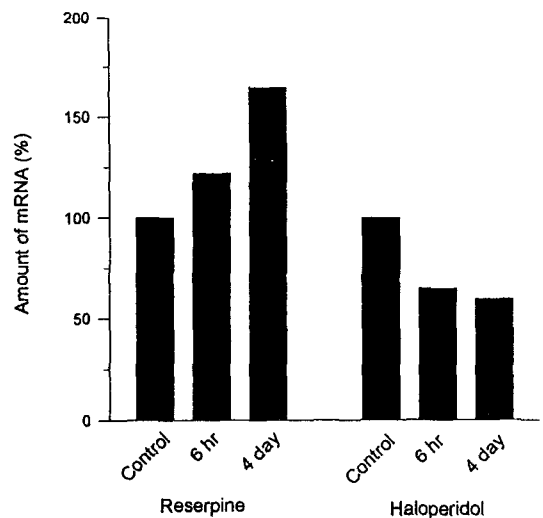


Fig. 5. Effects of reserpine and haloperidol on the level of PNMT mRNA in rat adrenal gland. The control and experimental groups were the same as those in Fig. 1. The level of PNMT mRNA was evaluated twice in pooled tissues from 15 rats. Each bar represents the mean of the relative values to the control value.

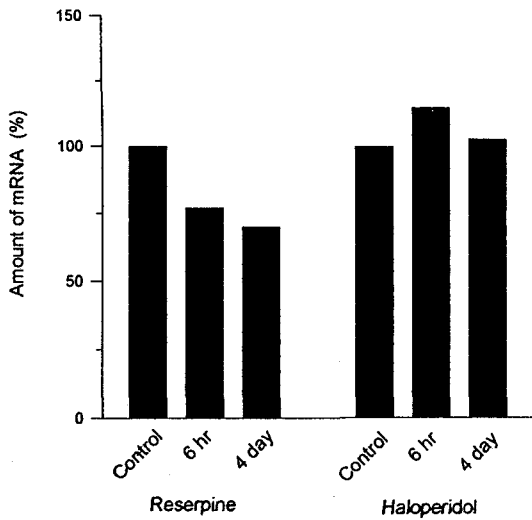


Fig. 6. Effects of reserpine and haloperidol on the level of PNMT mRNA in rat brain stem. The control and experimental groups were the same to those in Fig. 1. The level of PNMT mRNA was evaluated twice in pooled tissues from 15 rats. Each bar represents the mean of the relative values to the control value.

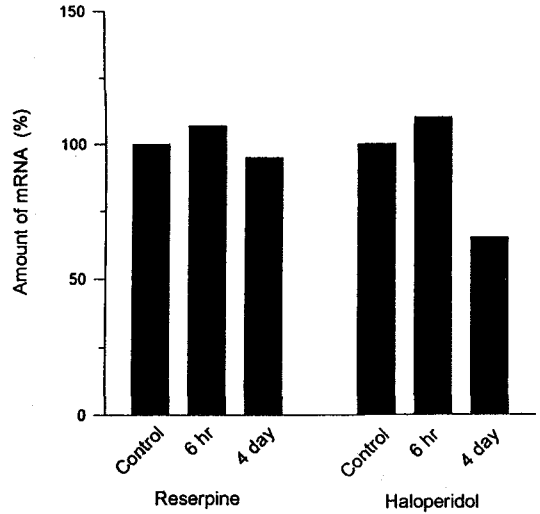


Fig. 7. Effects of reserpine and haloperidol on the level of PNMT mRNA in rat hypothalamus. The control and experimental groups were the same to those in Fig. 1. The level of PNMT mRNA was evaluated twice in pooled tissues from 15 rats. Each bar represents the mean of the relative values to the control value.

land, 1971; Wurtman and Axelrod, 1965; Wurtman 등, 1972). 호르몬성 조절로는, 부신피질에서 분비되는 농축된 corticosteroid가 부신수질로 직접 분비되어 부신수질의 PNMT 생성이 증가된다(Pohorecky and Wurtman, 1971).

그런데 adrenal corticosteroid의 생성 분비는 뇌하수체의 corticotropin에 의해 조절 받고 corticotropin의 생성 분비는 시상하부의 corticotropin releasing factor에 의해 조절되므로, 결국 시상하부가 hypothalamic-pituitary-adrenal axis를 통해 부신 에피네프린을 조절하는 최상위 조절 중추가 되는 셈이다. 그런데 시상하부의 corticotropin releasing factor의 생성이 시상하부의 에피네프린 신경에 의해 조절된다는 보고들(Berkenbosch 등, 1981; Mezey 등, 1984; Roth 등, 1981; Spinedi 등, 1988; Tilders 등, 1982; Vanloon 등, 1971)로부터, 시상하부의 에피네프린 신경이 hypotha-

lamic-pituitary-adrenal axis를 통해 부신 에피네프린 생성을 조절할 가능성을 생각할 수 있다. 그러나 에피네프린이 hypothalamic-pituitary-adrenal axis를 자극시킨다는 주장(Mezey 등, 1984; Roth 등, 1981; Vanloon 등, 1971)과 억제시킨다는 주장(Berkenbosch 등, 1981; Spinedi 등, 1988; Tilders 등, 1982)이 엇갈리고 있어 그 조절기전에 대해서는 확실히 밝혀지지 않고 있다. 본 연구에서는 haloperidol에 의한 시상하부 PNMT의 감소가 부신의 PNMT 감소로 이어졌다(Fig. 1, 3). 따라서 시상하부와 부신의 PNMT 활성이 같은 양상으로 변화하였던 본 연구 결과로부터 시상하부의 에피네프린 신경이 hypothalamic-pituitary-adrenal axis를 자극시킬 가능성이 있다고 여겨졌다(Fig. 8). 또한 haloperidol에 의해 시상하부의 PNMT 활성이 감소하였으므로 시상하부의 에피네프린 신경은 도파민 신경에 의해서 자극조절을 받

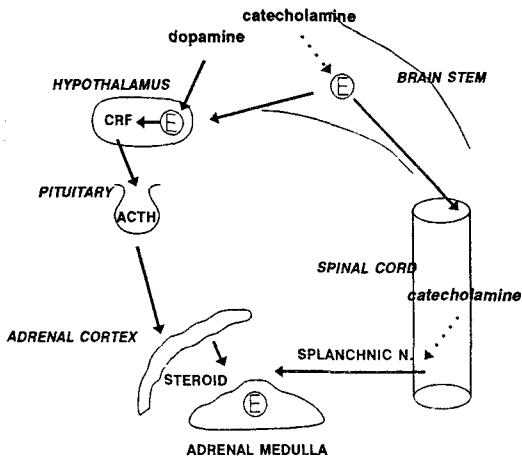
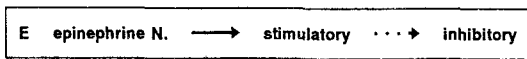


Fig. 8. Summary of the regulation of PNMT.

을 가능성도 생각할 수 있었다(Fig. 8). 그러나 haloperidol은 도파민 수용체 이외의 다른 카테콜아민 수용체에도 어느 정도 차단효과가 있다는 보고가 있어(Baldessarini, 1985) 이는 더욱 특이성을 가지는 수용체 차단제를 이용하여 밝혀야 될 과제라 생각된다.

부신수질의 에피네프린 생성 및 분비가 splanchnic nerve를 통한 신경성 자극에 의해 증가된다는 신경성 조절은 이미 잘 알려져 있으며(Weiner and Taylor, 1985), 이 splanchnic nerve는 일종의 preganglionic fiber로서 아세틸콜린 신경이다(Weiner and Taylor, 1985). 그러나 이러한 신경성 조절의 중추가 어디에 있으며 어떤 신경세포로 구성되어 있는지 거의 알려진 바가 없다. 단지 reserpine으로 카테콜아민을 고갈시키면 부신의 PNMT 활성이 증가되며 이러한 현상이 splanchnic nerve를 절제하면 완전히 억제되므로(Lima and Sourkes, 1986) 카테콜아민 신경체들이 splanchnic nerve에 대해 inhibitory neuron으로 작용하고 결국 부신에서의 에피네프린 생성을 억제할 가능성이 있다. 본 연구에서도 이와 유사한

결과(Fig. 1)가 관찰되어, 이러한 가설이 타당하다고 사료된다(Fig. 8).

일종의 말초신경계라 할 수 있는 부신수질과 중추신경계의 에피네프린 신경세포가 호르몬이나 신경계를 통해서 상호 기능적으로 연결되어 있을 가능성에 대해서는 이미 앞에서 언급한 바 있다. 뿐만 아니라 뇌간의 C1에 있는 에피네프린 신경세포들로부터 비교적 많은 axon들이 시상하부로 뻗어있음이 면역조직학적 방법에 의해 밝혀졌으며(Goldstein 등, 1978; Routledge and Marsden, 1988), C1 부위를 전기자극하면 시상하부의 에피네프린 농도가 순간적으로 증가된다는 보고가 있어(Routledge and Marsden, 1987; 1988) 중추 에피네프린 신경세포들 사이에도 상호 연결되어 있을 가능성이 있다. 그러나 시상하부에는 에피네프린 신경세포 외에도 다른 신경세포가 많이 존재하므로 C1 부위의 에피네프린 신경 말단이 어떤 신경세포와 시냅스를 형성하고 있는지에 대해서는 알 수가 없다. 본 연구 결과, reserpine의 투여로 에피네프린 신경 말단에서 에피네프린이 현저하게 감소되었다고 여겨지나, 시상하부의 PNMT 활성에는 거의 변화가 없었다(Fig. 3). 이러한 실험 결과로만 볼 때 비록 형태학적으로 C1 부위의 에피네프린 신경세포의 axon이 시상하부로 뻗어 있기는 하지만 기능적으로는 중추 에피네프린 신경세포 사이에 서로 연결되어 있지 않을 것으로 생각된다(Fig. 8).

중추신경계의 에피네프린 신경은 부신의 조절중추로서의 기능 이외에도 여러 중요한 역할을 하리라 여겨지고 있는데 특히 많은 관심을 끄는 것은 에피네프린 신경의 혈압조절중추로서의 기능이다(Fuller, 1982; Goldstein 등, 1978). 연수(C1)에 있는 에피네프린 신경세포의 axon이 척수의 intermediolateral column으로 뻗어있다는 형태학적 증거(Goldstein 등, 1978) 뿐만 아니라 stereotaxic instrument를 이용한 전기자극법(Routledge and Marsden, 1987), PNMT 억제제나 중추적으로 작용하는 고혈압 치료제(centrally acting antihypertensive agent)를 사용하는 약리학적 방법

(Bolme and Fuxe, 1975; Bolme 등, 1979; Fuxe 등, 1979; 1980; Lew 등, 1979) 등을 이용한 여러 보고들로부터 연수의 에피네프린 신경세포가 교감신경을 조절한다는 것은 어느 정도 밝혀졌다. 뿐만 아니라 선천성 고혈압 흰쥐(Saavedra 등, 1979; Wijnen 등, 1977)나 실험적으로 유도된 고혈압 흰쥐(Petty and Reid, 1979; Saavedra 등, 1980)에서 중추신경계의 PNMT 활성이 증가되므로, 중추 에피네프린 신경세포가 고혈압의 발생과 관련이 있을 것이라고 추측하고 있다. 본 연구에서 reserpine과 haloperidol이 뇌간에서 PNMT 활성에 어떠한 영향을 미치는가를 관찰한 결과, reserpine에 의해 뇌간 PNMT 활성이 현저하게 증가했으나(Fig. 2) haloperidol에 의해서는 별다른 변화가 없었다(Fig. 2). 이러한 결과로부터 연수의 에피네프린 신경세포는 reserpine 처치시 연수부의 에피네프린이 고갈되면 되먹이(feedback) 기전에 의해 PNMT 활성이 올라가거나 또는 연수부의 에피네프린 신경에 억제성 영향을 미치고 있는 다른 카테콜아민계의 영향상실에 의해서 PNMT 효소가 유도되리라 추측된다(Fig. 8). 그러나 뇌간에서 reserpine에 의해 PNMT 활성은 증가했으나(Fig. 2) PNMT의 유전자발현은 감소하였다(Fig. 6). 이러한 차이를 명확히 설명하기는 곤란하나 아마도 뇌간 PNMT가 post-transcriptional 혹은 post-translational regulation 기전에 의해 조절되었을 것으로 생각된다.

Haloperidol은 항정신약제로 임상에서 자주 사용되는 약물로서 일반적으로 정신분열 환자에게 장기간 투여를 해야만 되므로 어쩔 수 없이 이 약물의 부작용을 감수해야 되는 실정이다. Haloperidol의 부작용으로 여러 가지가 나타나지만 시상하부와 뇌간의 생리적 역할과 관련된 부작용으로는 corticotropin releasing factor의 감소를 포함한 여러 호르몬 장애와 vasomotor reflex의 둔화에 의한 기립성 저혈압 등이 있다(Baldessarini, 1985). 본 연구 결과를 토대로 볼 때, haloperidol이 시상하부에서 주로 도파민의 작용을 차단함으로써 시상하부에서 에피네프린의 생성 및 분비를

감소시켜 corticotropin releasing factor의 생성을 억제하고 그 결과 부신 에피네프린 생성을 억제시켜 스트레스에 대한 반응에 지장을 초래하고, 혈압을 저하시킬 가능성이 있다고 사료되었다(Fig. 8). 또한 reserpine과 다른 양상으로 에피네프린 신경세포에 영향을 주는 haloperidol은, 최근에 카테콜아민 합성효소의 조절기전 연구에 약리학적 도구(pharmacological tool)로써 널리 사용되고 있는 reserpine과 더불어 에피네프린 신경에 대한 조절기전을 밝히는데 좋은 재료가 될 수 있다고 여겨진다.

중추신경계와 부신의 에피네프린 조절기전을 조사하기 위하여 약리학적 도구로서 reserpine과 haloperidol을 투여한 후 PNMT의 활성 및 mRNA 발현을 측정하였다. 본 연구결과를 다른 연구보고들의 주장과 관련지어 해석해 보면 다음과 같다. 시상하부의 에피네프린 신경은 주로 도파민신경에 의해 자극을 받아 "corticotropin releasing factor - corticotropin - 부신피질 corticosteroid - 부신수질 PNMT" 라는 일련의 호르몬 조절 축을 자극한다고 생각할 수 있으며, 어떤 카테콜아민 신경계는 splanchnic nerve를 통한 부신 PNMT의 신경성 조절을 억제할 가능성도 있다고 사료되었다. 또한 뇌간의 에피네프린 신경은 되먹이 기전이나 어떤 카테콜아민 신경계에 의해 억제 조절을 받으리라 여겨졌다.

참 고 문 헌

- Aviv H and Leder P: *Purification of biologically active globin messenger RNA by chromatography on oligothymidylic acid-cellulose. Proc Natl Acad Sci 69: 1408-1412, 1972*
- Baldessarini RJ: *Drugs and the treatment of psychiatric disorders. In The Pharmacological Basis of Therapeutics(eds. AG Gilman, LS Goodman, JW Rall, F Murad) Macmillan Publishing Co., New York, pp 387-412, 1985*
- Berkenbosch F, Vermes I, Binnekade R and Tilder FJH: *β -adrenergic stimulation of immunoreactive α -MSH, β -endorphin, ACTH and*

- corticosterone. *Life Sci* 29: 2249, 1981
- Bolme P and Fuxe K: Possible involvement of central adrenaline neurons in vasomotor control. In *Central Action of Drugs in Blood Pressure Regulation*(eds. DS Davies and JL Reid) Park Press, Baltimore University, pp 306-325, 1975
- Bolme P, Fuxe K, Jonsson G, Ganten D, Agnati L, Andersson K, Hallman H, Goldstein M and Hokfelt T: On the role of noradrenaline and adrenaline neuron systems in control of central cardiovascular functions. In *Catecholamines: Basic and Clinical Frontier*(eds. E Usdin, IJ Kopin and J Barchas) Pergamon, New York, pp 1440-1442, 1979
- Chomzynski P and Sacchi N: Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction. *Anal Bio-chem* 162: 156-159, 1987
- Crowley WR and Terry LC: Effect of an epinephrine synthesis inhibitor, SKF 64139, on the secretion of luteinizing-hormone in ovariectomized female rats. *Brain Res* 204: 231-235, 1981
- Fuller RW: Pharmacology of brain epinephrine neurons *Ann Rev Pharmacol Toxicol* 22: 31-55, 1982
- Fuxe K, Bolme P, Agnati LF, Jonsson G, Andersson K, Kohler C and Hokfelt T: On the role of central adrenaline neurons in central cardiovascular regulation. In *Central Adrenaline Neurons. Basic Aspects and their Role in Cardiovascular Functions*(eds. K Fuxe, M Goldstein, B Hokfelt, T Hokfelt) Pergamon, Oxford, pp 161-182, 1980
- Fuxe K, Jonsson G, Bolme P, Andersson K, Agnati LF, Goldstein M and Hokfelt T: Reduction of adrenaline turnover in cardiovascular areas of rat medulla oblongata by clonidine. *Acta Physiol Scand* 107: 177-179, 1979
- Goldstein M, Lew JY, Matsumoto Y, Hokfelt T and Fuxe K: Localization and function of PNMT in the central nervous system. In *Psychopharmacology*(eds. MA Lipton, A DiMascio and KF Killam) Raven Press, New York, pp 261-268, 1978
- Hokfelt T, Johansson O and Goldstein M: Central catecholamine neurons as revealed by immuno-histochemistry with special reference to adrenaline neurons. In *Handbook of Chemical Neuroanatomy, Classical Transmitters in the CNS, Part I*(eds. A Bjorklund and T Hokfelt) Elsevier, Amsterdam, pp 157-276, 1984
- Kvetnansky R, Kopin IJ and Saavedra JM: Changes in epinephrine in individual hypothalamic nuclei after immobilization stress. *Brain Res* 155: 387-390, 1978
- Lew JY, Mata F, Sauter A, Baba Y, Engel J and Goldstein M: Distribution of PNMT and epinephrine in the medulla oblongata of normotensive and spontaneous hypertensive rats. *J Neural Transm* 44: 305-316, 1979
- Lima L and Sourkes TL: Pharmacological analysis of the neurotransmitter mechanisms regulating phenylethanolamine N-methyltransferase in the adrenal gland. *Biochem Pharmacol* 35: 3965-3969, 1986
- Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL and Randall RJ: Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem* 193: 265-275, 1951
- Mezey E, Kiss TZ, Skirboll LR, Goldstein M and Axelrod J: Increase of corticotropin-releasing factor staining in rat paraventricular nucleus neurones by depletion of hypothalamic adrenaline. *Nature* 310: 140-141, 1984
- Michael GZ, Brian K and Hamzeh E: A sensitive radioenzymatic assay for epinephrine forming enzymes. *Life Sci* 43: 2117-2122, 1988
- Petty MA and Reid JL: Catecholamine synthesizing enzymes in brain stem and hypothalamus during the development of renovascular hypertension. *Brain Res* 163: 277-288, 1979
- Pohorecky LA and Wurtman RJ: Induction of epinephrine-forming enzyme by glucocorticoids: Steroid hydroxylation and inductive effect. *Nature* 219: 392-394, 1968
- Pohorecky LA and Wurtman RJ: Adrenocortical

- control of epinephrine synthesis. Pharmacol Rev 23: 1-35, 1971*
- Roland DC and Ira BB: *Kinetics of the glucocorticoid-mediated induction of phenylethanolamine N-methyltransferase in the hypophysectomized rat. Biochem Pharmacol 20: 3529-3532, 1971*
- Roth KA, Katz RJ, Sibel M, Mefford IN, Barchas JD and Carroll BJ: *Central epinephrinergic inhibition of corticosterone release in rat. Life Sci 28: 2389-2394, 1981*
- Routledge C and Marsden CA: *Adrenaline in the CNS and the action of antihypertensive drug. Trend Pharmacol Sci 9: 209-214, 1988*
- Routledge C and Marsden CA: *Adrenaline in the CNS: In vivo evidence for a functional pathway innervating the hypothalamus. Neuropharmacology 26: 823-830, 1987*
- Saavedra JM, Correa FM and Iwai J: *Discrete changes in adrenaline-forming enzyme activity in brain stem areas of genetic salt-sensitive hypertensive(Dahl) rats. Brain Res 193: 299-303, 1980*
- Saavedra JM, Kvetnansky R and Kopin IJ: *Adrenaline and dopamine levels in specific brain stem areas of acutely immobilized rats. Brain Res 160: 271-280, 1979*
- Spinedi E, Johnston CA, Chisari A and Negro-Vilar A: *Role of central epinephrine on the regulation of corticotropin-releasing factor and adrenocorticotropin secretion. Endocrinology 122: 1977-1983, 1988*
- Tilders FJH, Berkenbosch F and Smelik PG: *Adrenergic mechanisms involved in the control of pituitary-adrenal activity in the rat: A B-adrenergic stimulatory mechanism. Endocrinology 110: 114-115, 1982*
- Vanloon GR, Scapagnini U, Moberg GP and Ganong WF: *Evidence for central adrenergic neural inhibition of ACTH secretion in the rat. Endocrinology 89: 1464-1469, 1971*
- Weiner N and Taylor P: *Drugs acting at synaptic and neuroeffector junctional sites. In The Pharmacological Basis of Therapeutics(eds. AG Gilman, LS Goodman, JW Rall, F Murad) Macmillan Publishing Co., New York, pp 66-97, 1985*
- Wijnen HJLM, Versteeg DHG, Palkovits M and Wong DJ: *Increased adrenaline content of individual nuclei of the hypothalamus and the medulla oblongata of genetically hypertensive rats. Brain Res 135: 180-185, 1977*
- Wurtman RJ and Axelrod J: *Control of enzymatic synthesis of adrenaline in the adrenal medulla by adrenal cortical steroids. J Biol Chem 241: 2301-2305, 1965*
- Wurtman RJ, Pohorecky LA and Baliga BS: *Adrenocortical control of the biosynthesis of epinephrine and proteins in the adrenal medulla. Pharmacol Rev 24: 411-426, 1972*