

토끼 위 근위부의 비-아드레날린 비-콜린성 이완반응의 포타슘 채널에 의한 접합전 조절작용

홍은주 · 박미선* · 박상일 · 김명우 · 최수경 · 홍승철[#]

부산대학교 약학대학, *부산 식품의약품청

(Received May 14, 1997)

Prejunctional Modulation of Non-adrenergic Non-cholinergic Relaxation of the Rabbit Proximal Stomach by Potassium Channels

Eun Ju Hong, Mi Sun Park*, Sang Il Park, Myung Woo Kim,
Su Kyung Choi and Sung Cheul Hong[#]

College of Pharmacy, Pusan National University, Pusan, 609-735, Korea

*Pusan Food and Drug Administration, Pusan, 608-080, Korea

Abstract—The effects of different K⁺ channel blockers were investigated on the non-adrenergic non-cholinergic (NANC) relaxations in the circular muscle of the rabbit proximal stomach. Non-selective blockers of K⁺ channels, 4-aminopyridine (4-AP, 3~30 μM) and tetraethylammonium (TEA, 100~1000 μM) significantly enhanced the NANC relaxations in a concentration-dependent manner. The enhancement was more prominent for the NANC relaxations induced by the electric field stimulation (EFS) with lower frequencies. Blockers of large conductance Ca²⁺-activated K⁺ channels, charybdotoxin and iberiotoxin, a blocker of small conductance Ca²⁺-activated K⁺ channels, apamin and a blocker of ATP-sensitive K⁺ channels, glibenclamide had no effect on the NANC relaxations, respectively. Exogenous administration of nitric oxide (NO, 1~30 μM) caused concentration-dependent relaxations which showed a similarity to those obtained with EFS. None of the K⁺ channel blockers had an effect on the concentration-dependent relaxation in response to NO. These results suggest that prejunctional K⁺ channels regulate the release of NO from the NANC nerve in the rabbit proximal stomach as the inhibition of prejunctional K⁺ channels increases the NANC relaxation induced by the EFS.

Keywords □ Rabbit proximal stomach, Electrical field stimulation, Non-adrenergic non-cholinergic relaxation, Nitric oxide, K⁺ channels, Prejunctional modulation.

위저와 위체로 되어있는 위 근위부는 위의 저장기능을 하고 있으며¹⁾, 비-아드레날린 비-콜린성 (non-adrenergic non-cholinergic : NANC) 신경은 음식을 먹을 때 반사적인 수용성 이완반응 (receptive relaxation)을 매개한다고 추정하였다.²⁾ 위저의 NANC 이완반응은 주로 nitric oxide (NO)에 의하여 매개된다는 많은 보고³⁻⁶⁾가 있으며, 저자들은 토끼 위체에서

도 NANC 이완반응이 nitric oxide (NO)-cyclic guanosine 3', 5'-monophosphate (cyclic GMP) 경로에 의하여 매개된다는 것을 관찰하였다.⁹⁾

신경에는 신경전달의 접합전 조절작용을 하는 여러 가지 K⁺ channel이 있다고 하며^{10, 11)}, 여러 형의 K⁺ channel 차단제가 여러 조직에서 신경전달물질의 유리에 현저한 효과를 나타낸다고 보고되고 있다. 즉 비선택적 K⁺ channel 차단제인 4-aminopyridine과 tetraethylammonium은 토끼의 수정관¹²⁾, 고양이 췌장^{13, 14)}, 흰쥐 문맥¹⁵⁾ 및 토끼 대동맥¹⁶⁾에서 신경자극에

[#] 본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로
(전화) 051-510-2805 (팩스) 051-513-6754

의한 noradrenaline의 유리를 각각 증가한다고 하였으며, 개구리의 신경근접합부에서는 신경말단의 전기적인 탈분극에 의한 acetylcholine의 유리를 현저히 증가한다는 보고가 있다.^{17, 18)} 이와같은 K⁺ channel에 의한 신경전달물질의 유리에 대한 접합전 조절작용은 아드레날린 효능 신경이나 콜린 효능 신경의 신경전달에만 한정되지 않고 흰쥐의 항문미골근¹⁹⁾과 주머니쥐의 식도²⁰⁾의 NANC 신경전달에도 영향을 미친다는 보고가 있고, 최근에는 개의 회장결장접합부 (ileocolonic junction)의 NO 효능성 신경전달작용에도 K⁺ channel이 영향을 미친다는 보고가 있다.²¹⁾

본 연구에서는 음식물을 먹을 때 가장 현저한 수용성 이완반응을 하는 위 근위부의 NANC 이완반응에 대한 K⁺ channel 차단제의 영향을 검토하여 위의 NANC 신경전달기전에 대한 K⁺ channel의 영향을 연구하고자 하였다.

실험방법

표본의 제작 및 실험방법

토끼 (체중 2~3 kg)를 ether로 마취시킨 후 경동맥을 절단하여 출혈사시키고 위를 분리하여 위점막을 조심스럽게 제거한 다음, 위 근위부 (위저 및 위체 상부)에서 길이 약 15~20 mm, 폭 2~3 mm의 운상근 표본을 만들었다. 이들 표본을 Krebs's 용액이 담긴 5 ml의 반응조에 설치한 백금전극 사이에 장치하고, 37°C에서 약 0.7 g의 안정장력 (resting tension)을 부하한 후, 실험 개시전에 90분 간 방치하여 평형을 유지시켰다. 이 방치기간 동안에 15분마다 새로운 영양액으로 교환하여 주었다. 등장성 장력 (isometric tension)의 변화는 Narco physiograph (MK IV)에 연결된 isometric force transducer (Narco F60)를 사용하여 기록했다. Krebs's 용액의 조성 (mM)은 NaCl, 118.3; KCl, 4.7; CaCl₂, 2.5; MgSO₄, 1.2; KH₂PO₄, 1.2; NaHCO₃, 25; Ca-EDTA, 0.026 및 glucose, 11.1 (pH 7.4)이고, 이 영양액을 95% O₂와 5% CO₂의 혼합 가스로 포화시켰다. 토끼 위 근위부 표본은 자동적으로 장력 (tone)이 상승되므로 이완반응을 보기위하여 장력을 상승시킬 필요가 없었다. 전기자극 (electrical field stimulation)은 Fujiwara 등²²⁾의 방법에 따라 한쌍의 평행한 백금선 전극을 통하여 자극했다. 비-아드레날린 비-콜린성 이완반응을 일

으키기 위하여 운상근 표본을 muscarine 수용체 차단제인 atropine (1 μM)과 아드레날린 효능 신경 차단제인 guanethidine (3 μM) 존재하에서 낮은 자극 빈도 (1~20 Hz, 40 V)에서 0.5 ms 구경과로써 5초 간 자극하였다.

4-aminopyridine, tetraethylammonium, charybdotoxin, iberiotoxin, apamin 및 glibenclamide는 전기자극 또는 외부에서 투여한 nitric oxide 투여 15분 전에 각각 반응조에 투여하였다.

약물 및 용액

실험에 사용한 시약인 atropine sulfate는 Wako사 (Japan), guanethidine sulfate는 Tokyo-Kasei사 (Japan), tetrodotoxin, 4-aminopyridine, tetraethylammonium chloride, charybdotoxin, iberiotoxin, apamin, glibenclamide는 Sigma Chemical사 (U.S.A.), sodium nitrite는 Yakuri Pure Chemicals사 (Japan)의 것을 각각 사용하였다. Glibenclamide는 dimethylsulphoxide에 녹인 후 증류수로 희석하여 사용하였다. 그의 약물은 증류수에 녹여 사용하였다. NO 용액은 Furchgott의 방법²³⁾에 따라 사용직전에 sodium nitrite에 pH 2의 HCl 용액을 가하여 제조한 것을 사용하였다.

통계분석

위 근위부 표본의 이완작용은 전기자극으로 일으킨 NANC 이완반응의 경우 약물을 투여하기 전 20 Hz의 전기자극으로 일으킨 이완반응의 백분율 (%)로써 각각 표시하였으며, 외부에서 투여한 NO의 이완반응의 경우 약물을 투여하기 전 30 μM의 NO로 일으킨 이완반응의 백분율 (%)로써 표시하였다. 실험결과는 실험회수에 대한 평균치 ±S.E.로써 나타내었다. 모든 실험치는 Student's *t* test에 의해 분석하였으며, *P*치가 0.05이하일 때 유의성이 있다고 판정하였다.

실험결과

NANC 이완반응에 대한 비선택적 K⁺ CHANNEL 차단제의 영향

위 근위부의 운상근 표본을 muscarine 수용체 차단제인 atropine (1 μM)과 아드레날린 효능 신경 차단제인 guanethidine (3 μM) 존재하에서 전기자극 (1~

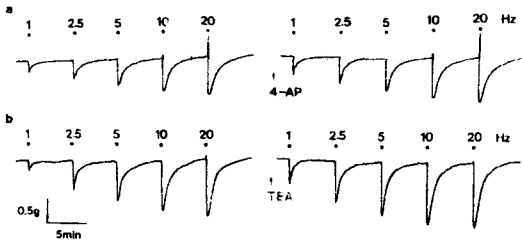


Fig. 1—Typical tracing showing the effect of the non-selective blockers of K⁺ channels, (a) 4-aminopyridine and (b) tetraethylammonium, on the relaxation to electrical field stimulation (1~20 Hz, 0.5 ms) in a circular muscle strip of the isolated rabbit proximal stomach. The experiments were performed in the presence of atropine (1 μM) and guanethidine (3 μM). Electrical field stimulation (1~20 Hz, 0.5 ms for 5 secs) was added at dot. 4-Aminopyridine (4-AP, 30 μM) and tetraethylammonium (TEA, 1000 μM) were added at arrow. a and b were different preparations. Similar results were obtained at least 7 other experiments. Tracing-breaks represent periods of tissue equilibration.

20 Hz, 0.5 ms, 40 V for 5 secs)을 하였을 때 자극빈도에 의존하는 이완반응을 나타냈으며 (Fig. 1), 이들 이완반응은 신경전도 차단제인 tetrodotoxin (0.3 μM)을 전처리하였을 때 소실되었다 (실험결과 불표시). 이와같은 자극빈도 의존성 NANC 이완반응은 비선택적 K⁺ channel 차단제인 4-aminopyridine (4-AP, 3~30 μM)와 tetraethylammonium (TEA, 100~1000 μM)를 각각 전처리하였을 때 농도의존적으로 유의성있게 증가되었으며, 특히 저빈도의 전기자극 (1~5 Hz)으로 일으킨 이완반응이 더 현저하게 증가하였다. 즉 20 Hz의 자극빈도로 전기자극하였을 때의 이완반응을 100%로 하였을 때 1, 2.5 및 5 Hz의 자극빈도에서 전기자극으로 일으킨 NANC 이완반응은 30 μM의 4-AP에 의해 4.81±0.82%, 23.46±2.42% 및 41.95±3.46%에서 34.95±4.13%, 53.23±3.22% 및 66.91±4.30%로 각각 증가하여 4-AP 투여전에 비하여 약 7.3배, 2.3배 및 1.6배로 각각 증가되었고, 1000 μM의 TEA에 의해 5.18±1.07%, 25.72±2.26% 및 47.49±2.54%에서 32.06±4.36%, 58.6±6.15% 및 74.93±4.80%로 각각 증가하여 TEA 투여전에 비하여 약 6.2배, 2.3배 및 1.6배로 각각 증가되었다. 따라서 4-AP가 TEA에 비하여 약 33배 더 큰 효과를 나타내었다 (Fig. 1 및 2).

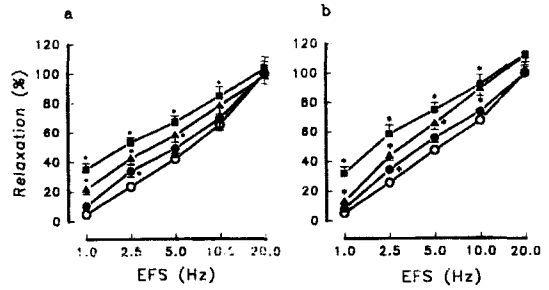


Fig. 2—Frequency-response curve showing the effect of (a) 4-aminopyridine (●, 3 μM; ▲, 10 μM; ■, 30 μM), (b) tetraethylammonium (○, 100 μM; ▲, 300 μM; ■, 1000 μM) on the relaxation induced by electrical field stimulation (○, 1~20 Hz, 0.5 ms) in a circular muscle strip of the isolated rabbit proximal stomach. Results were shown as mean±S.E. from 7 to 25 experiments, and expressed as percentage of relaxation induced by 20 Hz in the absence of 4-AP or TEA. *P<0.05, significantly different from control values, Student's *t* test for unpaired observation. Other experimental conditions were the same as those described in Fig. 1.

NANC 이완반응에 대한 선택적인 K⁺ CHANNEL 차단제의 영향

위 근위부의 NANC 이완반응은 large conductance Ca²⁺-activated K⁺ channel 차단제인 charybdotoxin (CTX, 10~100 nM)과 iberiotoxin (IBTX, 10~100 nM), small conductance Ca²⁺-activated K⁺ channel 차단제인 apamin (1~2 μM)과 ATP-sensitive K⁺ channel 차단제인 glibenclamide (0.3~3 μM)을 각각 전처리하였을 때 유의성있는 영향이 없었다 (Fig. 3).

외부에서 투여한 NITRIC OXIDE (NO)의 이완반응에 대한 K⁺ channel 차단제의 영향

위 근위부의 운상근 표본에 외부에서 NO (1~30 μM)의 농도를 증가시키면서 투여하였을 때 전기자극으로 일으킨 NANC 이완반응과 비슷한 농도의존적 이완반응을 일으켰으며, 이들 이완반응은 비선택적 K⁺ channel 차단제인 4-AP (30 μM) 및 TEA (1000 μM), large conductance Ca²⁺-activated K⁺ channel 차단제인 CTX (100 nM) 및 IBTX (100 nM), small conductance Ca²⁺-activated K⁺ channel 차단제인 apamin (2 μM)과 ATP-sensitive K⁺ channel 차단제인 glibenclamide (3 μM)를 각각 전처리하

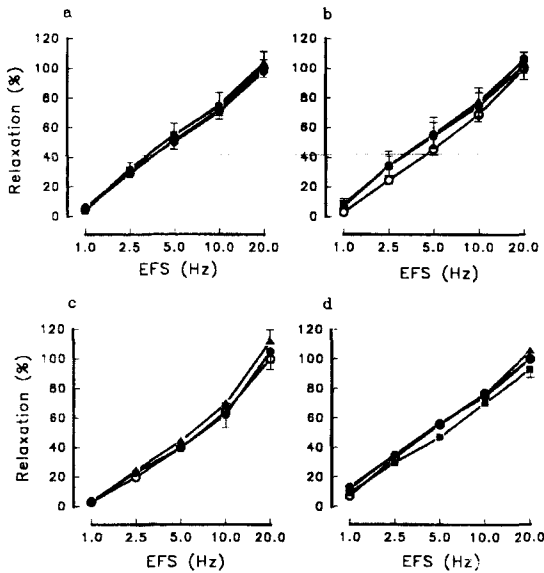


Fig. 3—Frequency-response curve showing the effect of (a) charybdotoxin (CTX: ●, 10 nM; ▲, 30 nM; ■, 100 nM), (b) iberiotoxin (IBTX: ●, 10 nM; ▲, 30 nM; ■, 100 nM), (c) apamin (●, 1 μM; ▲, 2 μM) and (d) glibenclamide (●, 0.3 μM; ▲, 1 μM; ■, 3 μM) on the relaxation induced by electrical field stimulation (○, 1~20 Hz, 0.5 ms) in a circular muscle strip of the isolated rabbit proximal stomach. Results were shown as mean±S.E. from 4 to 24 experiments and expressed as percentage of relaxation induced by 20 Hz in the absence of CTX, IBTX, apamin or glibenclamide. * $P < 0.05$, significantly different from control values. Student's *t* test for unpaired observation. Other experimental conditions were the same as those described in Fig. 1.

였을 때 유의성있는 영향이 없었다 (Fig. 4 및 5).

고 찰

K^+ channel 차단제가 여러 가지 조직에서 신경 자극에 의한 noradrenaline의 유리를 증가한다고 하였으며^{12-16, 24}, 신경근 접합부에서 acetylcholine의 유리를 증가한다고 하였다.^{17, 18, 25} 이와같이 K^+ channel 차단제에 의하여 신경전달물질의 유리가 증가되는 것은 신경말단의 membrane potassium conductance를 억제함으로써²⁶⁻²⁹ 접합전 신경막의 활동전위 (action potential)의 지속시간 (duration)이 증가되어^{18, 25, 30-32} 신경말단의 전위차 의존성 calcium 유입 (potential dependent Ca^{2+} influx)이 증가되기 때

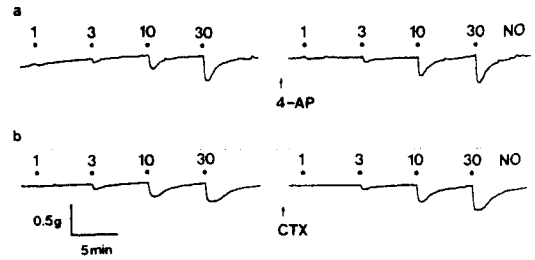


Fig. 4—Typical tracing showing the effect of (a) the non-selective blocker of K^+ channels, 4-aminopyridine (4-AP) and (b) the blocker of large conductance Ca^{2+} -activated K^+ channels, charybdotoxin (CTX) on the relaxation to nitric oxide (NO) in a circular muscle strip of the isolated rabbit proximal stomach. NO (1~30 μM) was added at dot. 4-AP(30 μM) and CTX(100 nM) were added at arrow. Similar results were obtained at least 4 other experiments. Tracing-breaks represent periods of tissue equilibration.

문이라고 한다. 이와같은 신경전달물질의 유리에 대한 K^+ channel의 접합전 조절작용은 아드레날린 효능 신경이나 콜린 효능 신경에 한정되지 않고 비-아드레날린 비-콜린성 (NANC) 신경전달에도 영향을 미친다고 하였으며¹⁹⁻²¹ 최근에는 선택적인 K^+ channel 차단제가 속속 개발됨으로써 K^+ channel이 신경전달 조절에 중요한 역할을 한다는 것이 더욱 명확해지고 있다.^{10, 11} 최근 De Man 등²¹은 개의 회장결장접합부에서 비선택적인 K^+ channel 차단제인 4-AP 및 TEA과 large conductance Ca^{2+} -activated K^+ channel의 선택적 차단제인 CTX³³⁻³⁶이 전기자극으로 일으킨 NO 효능성 NANC 이완반응을 증가한다는 것을 보고 개의 회장결장접합부에서 접합전 K^+ channel이 NANC 신경으로부터 NO 유리를 조절한다고 추정하였다.

본 연구에서는 음식물을 먹을 때 가장 현저한 수용성 이완반응을 하는 위 근위부의 NANC 이완반응에 대하여 K^+ channel의 영향을 검토하기 위하여 토끼 위 근위부의 NANC 이완반응에 대한 K^+ channel 차단제의 영향을 검토하였다. 그 결과 비선택적인 K^+ channel 차단제인 4-AP (3~30 μM)와 TEA (100~1000 μM)는 NANC 이완반응을 농도의존적으로 비슷하게 증가하였으나 (Fig. 1 및 2), large conductance Ca^{2+} -activated K^+ channel 차단제인 CTX 및 IBTX³⁷, small conductance Ca^{2+} -activated K^+ channel 차단제인 apamin³⁸⁻⁴⁰과 ATP-sensitive K^+ channel

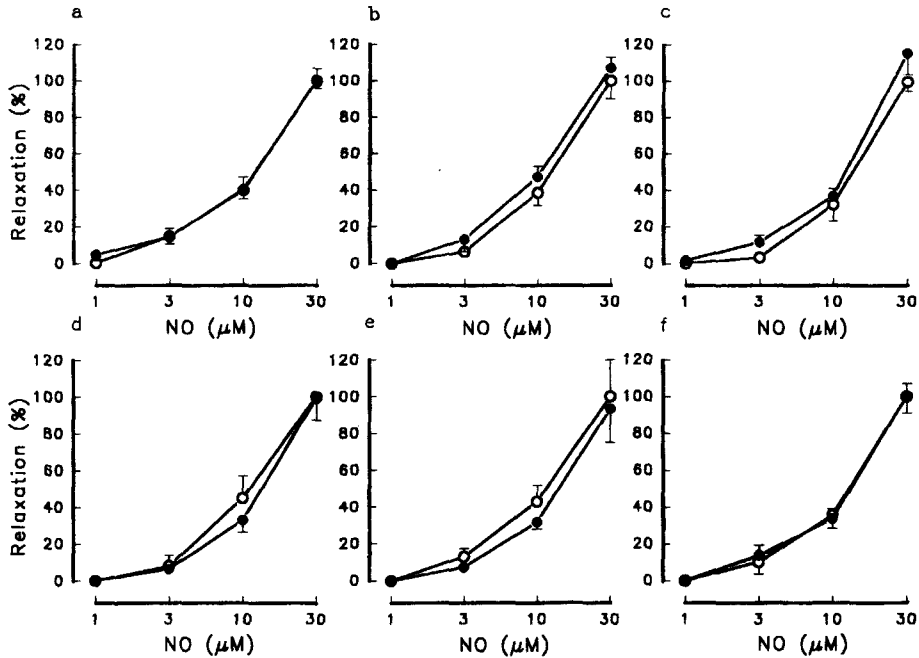


Fig. 5— Concentration-response curve showing the effect of (a) 4-aminopyridine (4-AP: ●, 30 M), (b) tetraethylammonium (TEA: ●, 1000 μM), (c) charybdotoxin (CTX: ●, 100 nM), (d) iberiotoxin (IBTX: ●, 100 nM), (e) apamin (●, 2 μM) and (f) glibenclamide (●, 3 μM) on the relaxation in response to nitric oxide (NO: ○, 1~30 μM) in a circular muscle strip of the isolated rabbit proximal stomach. Results were shown as mean S. E. from 4 to 11 experiments and expressed as percentage of relaxation induced by 30 μM of NO in the absence of 4-AP, TEA, CTX, IBTX, apamin or glibenclamide. *P<0.05, significantly different from control values, Student's *t* test for paired observation.

차단제인 glibenclamide^{41, 42)}와 같은 보다 선택적인 K⁺ channel 차단제에 의하여 영향이 없었고 (Fig. 3), 외부에서 투여한 NO에 의한 이완반응은 전기자극으로 일으킨 NANC 이완반응과 비슷한 농도의존성 이완반응을 일으켰으며 (Fig. 4), 이 NO의 이완 반응은 본 실험에 사용한 모든 K⁺ channel 차단제에 의하여 영향이 없었다 (Fig. 4 및 5). 따라서 위 근위부에서 4-AP와 TEA에 의한 NANC 이완반응의 증가작용은 접합전 K⁺ channel에 대한 작용이라 사료되나, 이 작용에 관여하는 K⁺ channel의 특이적인 형태는 본 실험의 결과로서는 확인할 수 없었다. 위장 평활근에도 접합후 K⁺ channel (postjunctional K⁺ channel)이 있다는 것⁴³⁻⁴⁵⁾이 알려져 있으나 위 근위부의 NANC 이완반응에는 관여하지 않으리라 사료된다. 전기자극으로 일으킨 NANC 이완반응에 대한 4-AP와 TEA의 상승효과 (potentiation effects)는 저빈도 (1~5 Hz)의 자극에서 각각 더 현저하였다 (Fig. 1 및 2). 즉 1, 2.5 및 5 Hz의 저빈도의 전기자극으로 일으킨 NANC 이완반응

은 30 μM의 4-AP에 의하여 약 7.3배, 2.3배 및 1.6배로 각각 증가되었으며, 1000 μM의 TEA에 의하여 약 6.2배, 2.3배 및 1.6배로 각각 증가되어 비슷한 효력 (efficacy)을 나타내었으나 4-AP가 TEA보다 약 33배 더 큰 효과를 나타내었다. 이 때 저빈도의 자극에서 상승효과가 더 큰 것은 고빈도의 전기자극에서는 이들 K⁺ channel 차단제의 효과를 압도하는 더 많은 K⁺ efflux를 일으키기 때문이라 사료되며, 이는 K⁺ efflux와 K⁺ channel 차단제간의 상경적 성질 (competitive nature)의 특징을 나타내고 있다. 이와 같이 저빈도의 전기자극에서 보다 큰 효과를 나타내는 것은 다른 동물조직에서도 나타낸 바 있다.^{12, 13, 19, 21)}

이상의 결과를 종합하면, 토끼 위 근위부에서 비선택적인 K⁺ channel 차단제인 4-AP와 TEA가 외부에서 투여한 NO의 접합후 이완반응에는 영향이 없고, 전기자극으로 일으킨 NANC 이완반응을 증가함으로 NANC 신경으로부터의 NO 유리에 접합전 K⁺ channel의 조절작용이 추정된다. 앞으로 선택적인 K⁺

channel 차단제가 더 많이 개발되어 위의 NANC 이완 반응의 접합전 조절작용에 관여하는 K^+ channel의 특이적 type이 밝혀지기를 기대한다.

결 론

토끼 위 근위부 윤상근의 비-아드레날린 비-콜린성 (NANC) 이완반응에 대한 potassium channel 차단제의 영향을 연구하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 비선택적인 K^+ channel 차단제인 4-aminopyridine ($3\sim 30\ \mu\text{M}$)과 tetraethylammonium ($100\sim 1000\ \mu\text{M}$)은 전기자극으로 일으킨 NANC 이완반응을 농도의존적으로 증가하였으며, 특히 저빈도의 전기자극으로 일으킨 NANC 이완반응을 더 현저하게 증가하였다.

2. Large conductance Ca^{2+} -activated K^+ channel 차단제인 charybdotoxin 및 iberiotoxin, small conductance Ca^{2+} -activated K^+ channel 차단제인 apamin과 ATP-sensitive K^+ channel 차단제인 glibenclamide는 전기자극으로 일으킨 NANC 이완반응에 유의성있는 영향이 없었다.

3. 외부에서 투여한 nitric oxide ($1\sim 30\ \mu\text{M}$)는 전기자극으로 일으킨 NANC 이완반응과 비슷한 농도의 존성 이완 반응을 일으켰다.

4. 본 실험에 사용한 모든 K^+ channel 차단제는 nitric oxide 로 일으킨 농도의존성 이완반응에 유의성있는 영향이 없었다. 이상의 결과로써 토끼 위 근위부의 전기자극으로 일으킨 NANC 이완반응은 접합전 K^+ channel의 억제에 의해 증가되므로 위 근위부의 NANC 신경으로부터의 NO 유리에 접합전 K^+ channel의 조절역할이 추정된다.

문 헌

- Meyer, J. H. : Motility of the stomach and gastroduodenal junction. In *Physiology of the Gastrointestinal Tract* 2nd edn, (edited by Johnson L. R.) Raven Press, New York, p. 613 (1987).
- Abrahamsson, H. : Non-adrenergic non-cholinergic nervous control of gastrointestinal motility patterns. *Arch. Int. Pharmacodyn.* **280** (Suppl.), 50 (1986).
- 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).
- Lefebvre, R. A., Baert, E. and Barbier, A. J. : Influence of N^G -nitro-L-arginine on nonadrenergic non-cholinergic relaxation in the guinea-pig gastric fundus. *Br. J. Pharmacol.* **106**, 173 (1992).
- Desai, K. M., Sessa, W. C. and Vane, J. R. : Involvement of nitric oxide in the reflex relaxation of the stomach to accommodate food or fluid. *Nature* **351**, 477 (1991).
- Desai, K. M., Warner, T. D., Bishop, A. E., Polak, J. M. and Vane, J. R. : Nitric oxide, and not vasoactive intestinal peptide, as the main neurotransmitter of vagally induced relaxation of the guinea pig stomach. *Br. J. Pharmacol.* **113**, 1197 (1994).
- Hong, S. C., Choi, J. E., Han, S. K., Kim, Y. M., Kim, N. D., Park, M. S., Hong, E. J. and Kim, J. B. : Non-adrenergic non-cholinergic relaxation mediated by nitric oxide in the rabbit gastric fundus. *Yakhak Hoeji* **38**, 149 (1994).
- Kim, M. W., Hong, S. C., Park, M. S., Hong, E. J. and Choi, J. E. : The role of nitric oxide in non-adrenergic non-cholinergic relaxation in the guinea-pig gastric fundus. *Arch. Pharm. Res.* **18**, 121 (1995).
- Hong, E. J., Choi, J. E., Park, M. S., Choi, S. K. and Hong, S. C. : Downward decrease of nonadrenergic non-cholinergic relaxation in the rabbit gastric body. *Yakhak Hoeji*, **41**, 389 (1997).
- Belardetti, F. and Siegelbaum, S. A. : Up- and down-modulation of single K^+ channel function by distinct second messengers. *Trends Neurosci.* **11**, 232 (1988).
- Miller, R. J. : Receptor-mediated regulation of calcium channels and neurotransmitter release. *FASEB J.* **4**, 3291 (1990).
- Johns, A., Golko, D. S., Lauzon, P. A. and Patton, D. M. : The potentiating effects of 4-am-

- inopyridine on adrenergic transmission in the rabbit vas deferens. *Eur. J. Pharmacol.* **38**, 71 (1976).
- 13) Kirkepar, M., Kirkepar, S. M. and Prat, J. C. : Effect of 4-aminopyridine on release of noradrenaline from the perfused cat spleen by nerve stimulation. *J. Physiol.* **272**, 517 (1977).
 - 14) Kirkepar, S. M. and Prat, J. C. : Effect of tetraethylammonium on noradrenaline release from cat spleen treated with tetrodotoxin. *Nature* **276**, 623 (1978).
 - 15) Leander, S., Arner, A. and Johansson, B. : Effects of 4-aminopyridine on mechanical activity and noradrenaline release in the rat portal vein in vitro. *Eur. J. Pharmacol.* **46**, 351 (1977).
 - 16) Hong, S. C. and Choi, S. K. : Comparison of effects of aminopyridines on the adrenergic nerve terminals of rabbit aorta. *Pusan Bull. of Pharmaceutical Sci* **20**, 23 (1986).
 - 17) Katz, B. and Miledi, R. : Spontaneous and evoked activity of motor nerve endings in calcium ringer. *J. Physiol.* **203**, 689 (1969).
 - 18) Lundh, H. and Thesleff, S. : The mode of action of 4-aminopyridine and guanidine on transmitter release from motor nerve terminals. *Eur. J. Pharmacol.* **42**, 411 (1977).
 - 19) Gillespie, J. S. and Tilmisany, A. K. : The action of tetraethylammonium chloride on the response of the rat anococcygeus muscle to motor and inhibitory nerve stimulation and to some drugs. *Br. J. Pharmacol* **58**, 47 (1976).
 - 20) Jury, J., Jager, L. P. and Daniel, E. E. : Unusual potassium channels mediate non-adrenergic non-cholinergic nerve-mediated inhibition in opossum esophagus. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* **63**, 107 (1985).
 - 21) De Man, J. G., Boeckxstaens, G. E., Pelckman, P. P., De Winter, B. Y., Herman, A. G. and Van Maercke, Y. M. : Prejunctional modulation of the nitrergic innervation of the canine ileocolonic junction via potassium channels. *Br. J. Pharmacol.* **110**, 559 (1993).
 - 22) 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).
 - 23) 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. In : *Vasodilatation: Vascular Smooth muscle, Peptides, Autonomic nerves and Endothelium*, edited by Vanhoutte, P. M. (Raven press, New York), p. 401 (1988).
 - 24) Ikushima, S., Muramatsu, I. and Fujiwara, M. : Effects of 4-aminopyridine on the adrenergic nerve terminals of rabbit arteries. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **219**, 792 (1981).
 - 25) Molgo, J., Lemeignan, M. and Lechat, P. : Effects of 4-aminopyridine at the frog neuromuscular junction. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **203**, 653 (1977).
 - 26) Pelhate, M. and Pichon, Y. : Selective inhibition of potassium current in the giant axon of the cockroach. *J. Physiol.* **242**, 90 (1974).
 - 27) Yeh, J. Z., Oxford, G. S., Wu, C. H. and Narahashi, T. : Dynamics of aminopyridine block of potassium channels in squid axon membrane. *J. Gen. Physiol.* **68**, 519 (1976a).
 - 28) Yeh, J. Z., Oxford, G. S., Wu, C. H. and Narahashi, T. : Interactions of aminopyridines with potassium channels of squid axon membranes. *Biophys. J.* **16**, 77 (1976b).
 - 29) Schauf, C. L., Colton, C. A., Colton, J. S. and Davis, F. A. : Aminopyridines and sparteine as inhibitors of membrane potassium conductance. Effects on Myxicola giant axons and the lobster neuromuscular junction. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **197**, 414 (1976).
 - 30) Lundh, H., Leander, S. and Thesleff, S. : Antagonism of the paralysis produced by botulinum toxin in the rat. The effects of tetraethylammonium, guanidine and 4-aminopyridine. *J. Neurol. Sci.* **32**, 29 (1977).
 - 31) Augustine, G. J. : Regulation of transmitter release at the squid giant synapse by presynaptic delayed rectifier potassium current. *J. Physiol.* **431**, 343 (1990).

- 32) Morita, K. and Barrett, E. F. : Evidence for two calcium-dependent potassium conductances in lizard motor nerve terminals. *J. Neurosci.* **10**, 2614 (1990).
- 33) Miller, C., Moczydlowski, E., Latorre, R. and Phillips, M. : Charybdotoxin, a protein inhibitor of single Ca^{2+} -activated K^+ channels from mammalian skeletal muscle. *Nature* **313**, 316 (1985).
- 34) Talvenheimo, J. A., Lam, G. and Gelband, C. : Charybdotoxin inhibits the 250 pS Ca^{2+} -activated K^+ channel in aorta and contracts aorta smooth muscle. *Biophys. J.* **53**, 258 (1988).
- 35) Carl, A., Garcia, M. L., Kenyon, J. L. and Sanders, K. M. : Block of Ca^{2+} -activated K^+ channels in smooth muscle from canine GI-tract by charybdotoxin. *Biophys. J.* **57**, 507 (1990).
- 36) Sugg, E. E., Garcia, M. L., Reuben, J. P., Patchett, A. A. and Kaczorowski, G. J. : Synthesis and structural characterization of charybdotoxin, a potent peptidyl inhibitor of the high conductance Ca^{2+} -activated K^+ channel. *J. Biol. Chem.* **265**, 18745 (1990).
- 37) Galvez, A., Gimenez-Gallego, G., Reuben, J. P., Roy-Contancin, L., Feigenbaum, P., Kaczorowski, G. J. and Garcia, M. L. : Purification and characterization of a unique, potent, peptidyl probe for the high conductance calcium-activated potassium channel from venom of the scorpion *Buthus tamulus*. *J. Biol. Chem.* **265**, 11083 (1990).
- 38) Romey, G. and Lazdunski, M. : The coexistence in rat muscle cells of two distinct classes of Ca^{2+} -dependent K^+ channels with different pharmacological properties and different physiological functions. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **118**, 669 (1984).
- 39) Romey, G., Hugues, M., Schmid-Antomarchi, H. and Lazdunski, M. : Apamin : a specific toxin to study a class of Ca^{2+} -dependent K^+ channels. *J. Physiol. (Paris)* **79**, 259 (1984).
- 40) Blatz, A. L. and Magleby, K. L. : Single apamin-blocked Ca^{2+} -activated K^+ channels of small conductance in cultured rat skeletal muscle. *Nature* **323**, 718 (1986).
- 41) Schmid-Antomarchi, H., De Weille, J., Fosset, M. and Lazdunski, M. : The receptor for antidiabetic sulfonylureas controls the activity of the ATP-modulated K^+ channel in insulin-secreting cells. *J. Biol. Chem.* **262**, 15840 (1987).
- 42) Standen, N. B., Quayle, J. M., Davies, N. W., Brayden, J. E., Huang, Y. and Nelson, M. T. : Hyperpolarizing vasodilators activate ATP-sensitive K^+ channels in arterial smooth muscle. *Science* **245**, 177 (1989).
- 43) Szurszewski, J. H. : A study of the canine gastric action potential in the presence of tetraethylammonium chloride. *J. Physiol.* **277**, 91 (1978).
- 44) Barajas-Lopez, C. and Huizinga, J. D. : Heterogeneity in spontaneous and tetraethylammonium induced activity in dog colon circular muscle. *Pflügers Arch.* **412**, 203 (1988).
- 45) Lefebvre, R. A. and Horacek, J. : Relaxant effects of BRL38227 and pinacidil on the rat gastric fundus. *Eur. J. Pharmacol.* **214**, 1 (1992).