

나일틸라피아(*Oreochromis niloticus*)와 이스라엘잉어(*Cyprinus carpio*)의 장관 평활근의 수축활성에 미치는 Tachykinin 류의 영향

김은희 · 서정수 · 허민도 · 박남규* · 이형호* · 정준기†

부경대학교 수산생명의학과, *부경대학교 식품생명공학부

Effects of Tachykinins on Intestinal Smooth Muscle of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) and Israel carp (*Cyprinus carpio*)

Eun-Hee Kim, Jung-Soo Seo, Min-Do Huh, Nam Gyu Park*,

Hyung-Ho Lee* and Joon-Ki Chung†

Department of Aquatic Life Medicine, Pukyong National Univ., Pusan 608-737, Korea

*Faculty of Food Science and Biotechnology, Pukyong National Univ., Pusan 608-737, Korea

The present study was undertaken to investigate and compare the effect and mode of action of tachykinins on isolated strip preparations of the intestinal smooth muscle from the Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* and the Israel carp, *Cyprinus carpio*. Both of neurokinin 1(NK-1) receptor agonist, substance P(SP) and neurokinin 2(NK-2) receptor agonist, neurokinin A(NKA) caused concentration-dependent contractions of intestinal smooth muscle in the Nile tilapia and the Israel carp. The efficiency and potency of these agonists varied between two fish species. In the Nile tilapia intestine, the efficiency and potency of SP were greater than those of NKA. However, the efficiency and potency of SP were similar to those of NKA. In the Nile tilapia intestine and the Israel carp intestine, the contractile responses of SP and NKA were noncompetitively antagonized by NK-1 receptor antagonist, L-732, 138 but unaffected by NK-2 receptor antagonist, MDL 29913. In addition, SP-induced contractions in the both of preparation were significantly inhibited by muscarinic antagonist, atropine($5 \times 10^{-7}M$) and ganglionic inhibitor, tetrodotoxin($2 \times 10^{-7}M$) but NKA-induced contractions were unaffected by those. These results indicate that two tachykinin agonists, SP and NKA predominately modulate the mechanical activity of isolated preparation from the Nile tilapia and the Israel carp directly through the activation of NK-1 receptor on the intestinal smooth muscle cells, but in the case of SP action, the indirect action through activation of cholinergic nerve terminals seems to be also implicated.

Key words : Tachykinin receptor, Substance P, Neurokinin A, Intestinal smooth muscle

Tachykinin류는 짧은 신경성 펩타이드류로서 carboxyl terminal에 공통의 아미노산 서열을 가지며, 주로 평활근의 수축을 위주로 한 생물학적 활성을 갖는 물질을 총칭한다. 각종 tachykinin류 중 그 분포 및 생리활성 연구가 가장 많이 이루어진 대표적인 종류는 포유류로부터 분리된 substance P(SP), neurokinin-A(NKA), neurokinin-B(NKB) 등이 있다(Harman, 1984). 이 중 SP는 1931년에 말의 뇌와 소화관으로부터 분리되었고, NKA와 NKB는 1983년에 Munekata 등에 의해 분리되었다(Song and Munekata, 1992). 어류에서는 1956년에 Von Euler와 Ostlund에 의하여 최초로 위장관내에서 SP의 존재가 밝혀진 이래 연어과 어류인 dog fish의 장에

서 SP와 NKA 유사물질인 scyliorhinin I 및 NKB 유사물질인 scyliorhinin II가 분리되었으며(El Sallhy, 1984; Conlon *et al.*, 1986; Buck and Krstenansky, 1987), 대구와 송어의 뇌에서 cod-SP, cod-NKA, trout-SP 및 trout-NKA도 분리되었다(Jensen and Conlon, 1992).

Tachykinin류에 대한 약리학적 및 생리학적 연구는 주로 소화기, 순환기 또는 호흡기계 평활근에 대하여 이루어졌고 랫트 및 기니아피를 포함한 각종 포유동물을 사용하여 왔다(Gaudreau *et al.*, 1981; Hua *et al.*, 1984; D'Orléans-Juste *et al.*, 1985a; D'Orléans-Juste *et al.*, 1985b; Jordan and Oehme, 1985). 그러나 하등척추 또는 무척추동물을 사용한

†Corresponding Author

생리활성 연구는 거의 이루어지지 않고 있다. 특히, 어류 조직내 tachykinin류 분포에 관한 연구는 적을 뿐 아니라(Jensen and Holmgren, 1991), 각 어류군의 대표적인 몇 어종에 한하여 위장관벽의 신경섬유와 장관 내분비세포내에 SP의 존재가 확인된 정도에 지나지 않는다(Jensen, 1989). 일반적으로 각종 tachykinin류는 각종 척추동물의 위장관 평활근을 수축시킨다고 알려져 있으며, 어류의 위장관 평활근에 있어서의 수축기전은 평활근세포에 대한 직접적인 작용과 nonadrenergic-noncholinergic (NANC) nerve terminal을 통한 간접적인 작용으로 구분하고 있다. 덧붙여서 포유류에서는 tachykinin 수용체가 SP 감수성의 NK-1형, NKA 감수성의 NK-2형, NKB 감수성의 NK-3형의 3종류로 분류되어 각종 조직에서의 분포차이가 잘 알려져 있으며(Regoli *et al.*, 1988), 랫트의 경우는 십이지장에서 NK-1형보다는 NK-2형의 수용체가 우세하게 분포한다고 보고되었다(Song and Munekata, 1992). 그러나, 어류에서는 이와 같은 수용체의 분포나 종류에 대하여 구체적으로 연구된 예를 찾아보기 어렵고 단지 활성의 유무측면에서의 연구는 소수 이루어져 있다(Von Euler and Ostlund, 1957; Jensen and Holmgren, 1991).

따라서, 본 연구에서는 어류의 위장관 평활근에 대한 tachykinin류의 작용기전을 규명하고자 포유류 substance P 및 neurokinin A가 경골어류인 나일틸라피아와 이스라엘잉어의 장관 평활근에 미치는 약리학적 활성정도를 비교 분석하고, 각종 tachykinin 수용체 차단제를 이용하여 tachykinin 수용체의 유무 및 수축활성에 muscarinic receptor 및 ganglionic fiber의 관련성 유무를 검토하고자 하였다.

재료 및 방법

실험동물

어류는 부경대학교 부속양어장에서 분양 받은 평균체중 200-300 g(체장 25-30 cm) 나일틸라피아(Niletilapia, *Oreochromis niloticus*)와 평균체중 800-1100 g(체장 40-45 cm)인 암수 이스라엘잉어(Israelcarp, *Cyprinus carpio*)를 사용하였다. 평균수는 25°C의 순환여과식 수조에서 15일 이상 순치 후 실험에 사용하였다.

장관 평활근 표본의 제작

상기의 어류를 Kitazawa 등(1988)의 방법으로 즉시 장관을 적출하였다. 미리 만들어 둔 영양액에 장관을 담가 입체현미경하에서 지방조직을 제거한 후, 2cm의 단편으로 만들었다. 이때 사용된 영양액의 조성은 NaCl, 100 mM; KCl, 2 mM; CaCl₂, 3 mM; MgCl₂, 3 mM; NaHCO₃, 30 mM; glucose, 5.6 mM, pH7.4였다. 나일틸라피아의 장관은 근육층과 점막층을 분리하지 않고 실험에 사용하였고, 이스라엘잉어의 장관 표본은 유리봉을 사용하여 종주근(longitudinal muscle strips)만을 조심스럽게 벗겨내어 실험에 사용하였다.

장관평활근 수축활성 측정 방법

각 장관 표본은 인공적으로 미리 O₂와 CO₂(95:5)로 포기한 영양액을 담은 10 ml의 반응조에 고정된 후, 수축측정용 transducer (Myograph force transducer, Narco F-60, Narco Bio-system inc., U.S.A.)에 연결하였다. 반응조내 수온은 틸라피아와 이스라엘잉어 모두 25°C로 유지하였다. 각 장관표본은 0.625 g의 기본장력(resting tension)을 가하였고 15분마다 영양액을 치환하면서 약 90분 동안 안정화시켰다. 각 장관표본은 1×10⁻⁵ M의 carbachol HCl(CCH)로 최대 수축시켜 활성화하였고, 기본장력을 원래 상태로 회복시킨 후 30분간 안정화시켰다.

1) Substance P(SP) 및 neurokinin A(NKA)의 수축활성 측정

나일틸라피아와 이스라엘잉어의 장관표본에서 SP 및 NKA의 농도수축 반응곡선을 얻기 위하여 최저 1×10⁻⁹ M에서 시작하여 단계적으로 3배씩 농도를 증가시켜가면서 최고 1×10⁻⁶ M까지 단일농도에 의한 수축반응을 측정하였다. 각 약물수축활성 측정 완료 후에는 1×10⁻⁵ M의 CCH를 적용하여 최대 수축반응을 기록하였다.

2) SP와 NKA 수축활성에 대한 NK-1 수용체 차단제인 L-732,138와 NK-2 수용체 차단제인 MDL 29,913의 효과

나일 틸라피아와 이스라엘잉어 장관 평활근 표본에 대한 tachykinin 수용체 차단제의 효과를 측정하기 위하여 각각의 차단제 존재하에서 SP 및

NKA에 의한 누적 농도 반응곡선을 측정하였다. 사용된 L-732,138의 농도는 각각 10^5 M, 3×10^6 M, 10^6 M이었으며, MDL 29,913의 농도는 각각 10^6 M, 3×10^7 M, 10^7 M을 사용하였다

3) SP 및 NKA의 수축활성에 대한 atropine의 효과

모든 장관표본에 대하여 무스카린성 수용체 길항제인 atropine의 존재하에서 SP와 NKA에 대한 수축활성 효과를 측정하였다. 각각 1×10^5 M CCH로 활성화된 나일틸라피아 장관표본의 SP와 NKA는 1×10^7 M로, 이스라엘잉어 장관표본에 대해서는 3×10^8 M의 일정한 농도로서 장관표본의 수축활성을 기록하였다. 각 장관표본은 다시 영양액을 교환하여 30분 후에 5×10^7 M의 atropine으로 전처리 후, 동일농도의 SP 및 NKA를 적용하였다.

4) SP 및 NKA의 수축활성에 대한 tetrodotoxin (TTX)의 효과

나일틸라피아와 이스라엘잉어 장관 표본에 대하여 SP와 NKA의 신경절 차단제인 TTX에 대한 효과를 확인하기 위하여 SP와 NKA를 3×10^8 M의 일정한 농도로 장관표본의 수축활성을 기록한 후, 다시 30분간 안정화 한 표본에 2×10^7 M의 TTX로 전처리하여 동일 농도의 SP와 NKA를 적용하였다.

실험약물

실험에 사용한 약물은 다음과 같다. Carbachol HCl(CCH), substance P(SP), neurokinin A(NKA), atropine, tetrodotoxin(TTX) 등은 Sigma사에서 구입하였으며, L-732,138과 MDL 29,913은 TOCRIS사에서 구입하였다. 모든 약물은 사용직전에 증류수에 용해하여 조제하였으며, L-732,138은 ethanol에 녹인 후, 영양액으로 희석하여 사용하였다.

자료분석

각 장관평활근 표본에 대한 수축활성은 1×10^5 M의 CCH로 유발된 수축반응에 대한 백분율 (%)로 나타내었다. 실험 결과는 means \pm S.E.M로 나타내었으며, 통계적 유의성은 student's t-test로 검정하여 P 값이 0.05 미만일 때 유의성이 있다고 판정하였다.

결 과

Substance P(SP) 및 neurokinin A(NKA)의 수축활성

포유류 유래의 대표적인 tachykinin 류인 SP와 NKA는 적출한 나일틸라피아와 이스라엘잉어 장관 표본에 대하여 최저 3×10^{10} M부터 최고 10^6 M까지 단일 농도로 3배씩 농도를 높여감에 따라 반응도 증가하였다. 나일틸라피아에서는 SP와 NKA의 역치 농도는 각각 3×10^{10} M, 10^9 M이었으며, 최대반응은 각각 1×10^7 M, 1×10^6 M에서 나타났다 (Fig. 1). 반면에, 이스라엘잉어에서는 SP와 NKA의 역치 농도는 1×10^9 M로 동일하였고, 최대반응은 각각 3×10^6 M, 1×10^6 M에서 나타났다(Fig. 2). Table 1은 Fig. 1 및 2에 나타난 각각의 용량-반응곡선으로부터 얻은 SP 및 NKA의 ED50 값 및 최대 반응값을 나타내고 있다. 나일틸라피아의 장관 평활근에서는 SP와 NKA의 ED50 값은 각각 1.2×10^8 M, 2.8×10^7 M이었으며, 최대 반응값은 1×10^5 M carbachol HCl(CCH)에 의해 야기된 수축반응의 $84.61 \pm 45.82\%$, $66.78 \pm 5.7\%$ 에 해당하였고, 이스라엘잉어에서는 ED50 값이 각각 2.8×10^7 M, 1.3×10^7 M이었으며, 최대 반응값은 1×10^5 M CCH에 의해 야기된 수축반응의 $56.74 \pm 2.78\%$, $69.11 \pm 6.31\%$ 에 해당하였다.

SP 및 NKA의 수축활성에 대한 NK-1수용체 차단제인 L-732,138와 NK-2 수용체 차단제인 MDL 29,913의 효과

나일틸라피아 및 이스라엘잉어의 장관 평활근에 있어서 SP 및 NKA에 의해 유발된 수축반응을 매개하는 neurokinin(NK) 수용체들의 특성을 알아보기 위하여 NK-1 수용체 차단제인 L-732,138 및 NK-2 수용체 차단제인 MDL 29,913가 SP 및 NKA에 의해 유발된 수축반응에 미치는 영향을 조사하였다. SP에 의해 유발된 수축반응곡선은 나일틸라피아 및 이스라엘잉어에서 모두 L-732,138에 의해서는 농도의존적으로 오른쪽으로 이동하였으며, 최고 반응도 억제되는 비경쟁적 억제 반응을 나타내었으나(Fig. 3A와 3B), NK-2 수용체 차단제인 MDL 29,913에 의해서는 아무런 영향을 받지 않았다(Fig. 3C와 3D). 그리고, NKA에 의해 유발된 수축활성도 NK-1 수용체 차단제인 L-732,138에 의하여 나일틸라피아와 이스라엘잉어 모두에서 약간

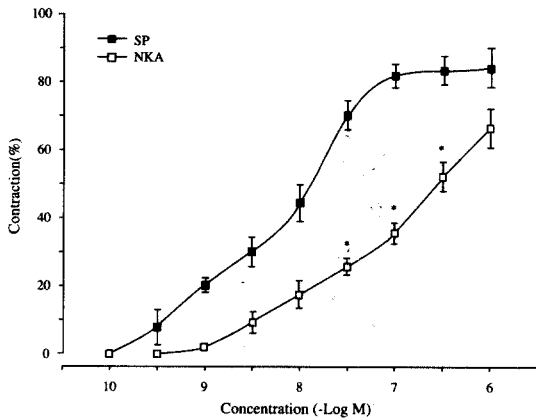


Fig. 1. Cumulative dose-response curve to SP or NKA in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) strips. Each strip was exposed to 10^{-10} ~ 10^{-6} M of SP (■) or NKA (□). All data expressed as a percentage of the maximal response to carbachol. Data points are given as mean \pm S.E.M (n=8-14). * : Significantly different from the control, $p < 0.05$

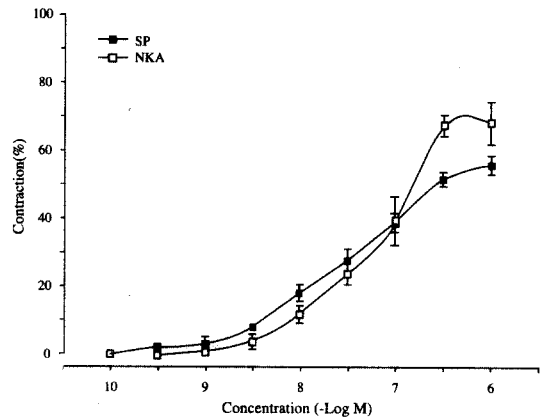


Fig. 2. Cumulative dose-response curve to SP or NKA in Israel carp (*Cyprinus carpio*) strips. Each strip was exposed to 10^{-10} ~ 10^{-6} M of SP (■) or NKA (□). All data expressed as a percentage of the maximal response to carbachol. Data points are given as the mean \pm S.E.M (n=8-14).

Table 1. Comparisons of ED₅₀ and maximum contraction with Nile tilapia and Israel carp

Drugs	ED ₅₀		Maximum contraction (%)	
	Nile tilapia	Israel carp	Nile tilapia	Israel carp
SP	1.2×10^8 M	2.8×10^7 M	84.61 ± 5.82	56.74 ± 2.78
NKA	2.8×10^7 M	1.3×10^7 M	66.78 ± 5.7	69.11 ± 6.31

All expressed as a percentage of the maximal response to the carbachol (10^{-3} M).
Data points are given as the mean \pm S.E.M (n=8-14)

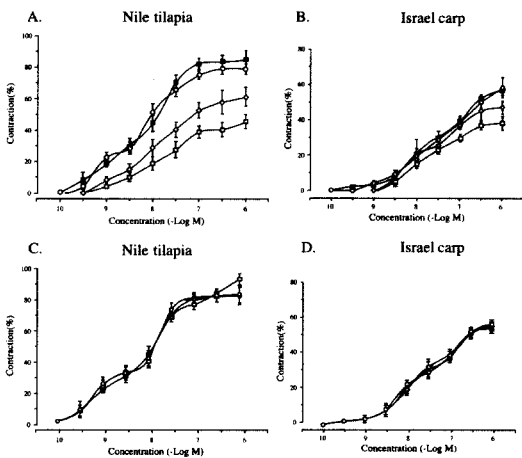


Fig. 3. The effects of neurokinin-1 antagonist, L-732,138(A and B) or neurokinin-2 antagonist, MDL 29,913(C and D) on the SP-induced contraction in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) and Israel carp (*Cyprinus carpio*) intestine strips. Each SP-induced contraction showed in the presence of L-732,138 (■, absence; □, 10^5 M; ◇, 3×10^6 M; ○, 10^6 M) and MDL 29913 (■, absence; □, 10^6 M; ◇, 3×10^7 M; ○, 10^7 M).

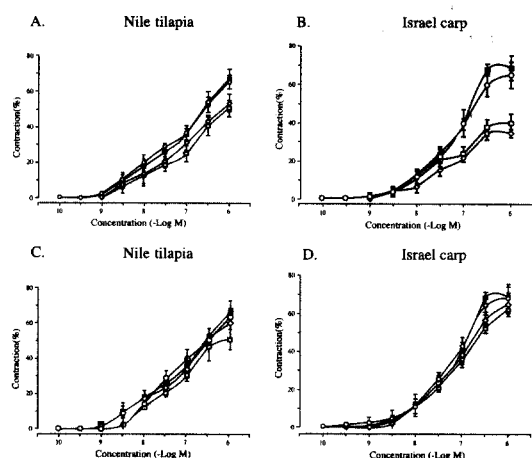


Fig. 4. The effects of neurokinin-1 antagonist, L-732,138(A and B) or neurokinin-2 antagonist, MDL 29,913(C and D) on the NKA-induced contraction in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) and Israel carp (*Cyprinus carpio*) intestine strips. Each NKA-induced contraction showed in the presence of L-732,138 (■, absence; □, 10^5 M; ◇, 3×10^6 M; ○, 10^6 M) and MDL 29913 (■, absence; □, 10^6 M; ◇, 3×10^7 M; ○, 10^7 M).

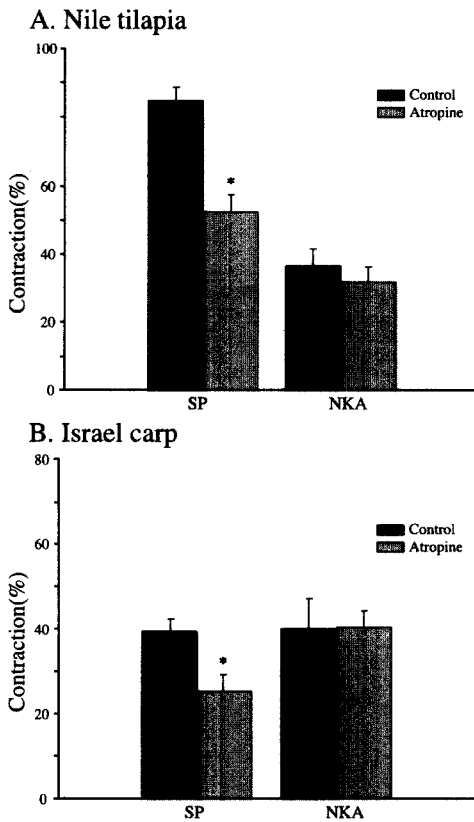


Fig. 5. Effects of muscarinic antagonist atropine on the SP- or NKA-induced contraction in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) and Israel carp (*Cyprinus carpio*) strips. Each intestinal strip was pretreated with 5×10^{-7} M atropine for 5 min. In the presence of atropine, the strips were exposed to 10^{-7} M SP or NKA in Nile tilapia and 3×10^{-8} M SP or NKA in Israel carp. All data expressed as a percentage of the maximal response to carbachol. Data points are given as the mean \pm S.E.M (n=5-8).

* : Significantly different from the control, $p < 0.05$

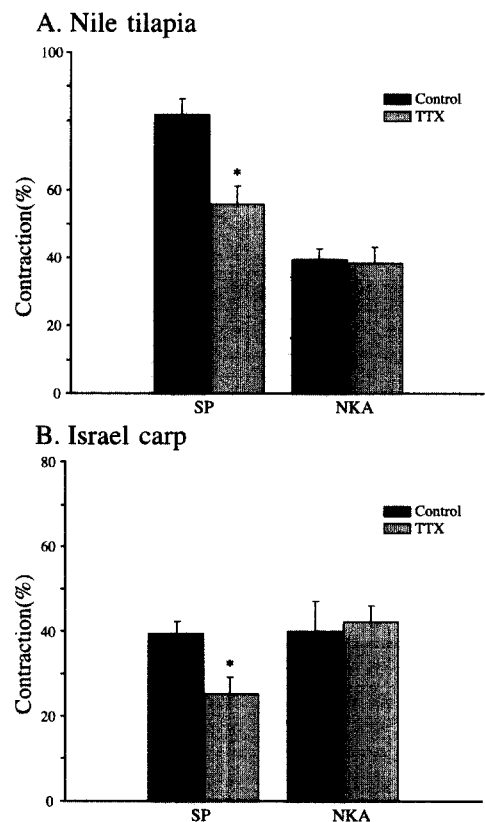


Fig. 6. Effects of ganglionic blocker tetrodotoxin (TTX) on the SP- or NKA-induced contraction in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) and Israel carp (*Cyprinus carpio*) strips. Each intestinal strip was pretreated with 2×10^{-7} M TTX for 2 min. In the presence of TTX, intestinal strips were exposed to 10^{-7} M SP or NKA in Nile tilapia and 3×10^{-8} M SP or NKA in Israel carp. All data expressed as a percentage of the maximal response to carbachol. Data points are given as the mean \pm S.E.M (n=5-8).

* : Significantly different from the control, $p < 0.05$

의 억제 효과를 나타내었으나 (Fig. 4A와 4B), NK-2 수용체 차단제인 MDL 29,913의 농도하에서는 어떠한 영향도 없었다 (Fig. 4C와 4D)

SP 및 NKA의 수축활성에 대한 atropine의 효과

나일틸라피아 장관 평활근의 SP (10^{-7} M)에 의한 수축활성은 $82.15 \pm 4.36\%$ 에서 5×10^{-7} M의 atropine을 전처리시 $35.70 \pm 5.68\%$ 로 유의성 있게 억제되었으나, NKA (10^{-7} M)에 의한 수축활성은 $50.46 \pm 6.58\%$ 에서 동량의 atropine을 전처리시 $31.35 \pm 5.38\%$ 로 약간만 억제되었다 (Fig 5A). 이스

라엘잉어의 장관 평활근에 대한 SP (3×10^{-8} M)에 의한 수축활성은 $39.68 \pm 2.79\%$ 에서 동량의 atropine을 전처리시 $25.78 \pm 4.79\%$ 로 유의성 있게 억제되었으나, NKA (3×10^{-8} M)에 의한 수축활성은 atropine에 아무런 영향을 받지 않았다 (Fig 5B).

SP 및 NKA의 수축활성에 대한 tetrodotoxin (TTX)의 효과

나일틸라피아 장관 평활근에 대한 SP (1×10^{-7} M) 수축활성은 단독 처리할 경우에는 $82.15 \pm 4.26\%$ 이었으나 TTX (2×10^{-7} M)를 전처리 한 후에는 동량의 농도에서 $55.38 \pm 5.58\%$ 로 유의성 있게 억제

되었다. 그러나, NKA(10^{-7} M)에 의한 수축활성은 단독 처리할 경우에는 $39.68 \pm 2.79\%$ 이었으나 TTX(2×10^{-6} M)을 전처리 한 후에도 $38.35 \pm 4.57\%$ 로 유의한 변화가 없었다(Fig 6A). 한편, 이스라엘 잉어의 장관 평활근의 경우에도 SP(3×10^{-6} M)에 의한 수축활성은 단독 처리할 경우 $39.68 \pm 2.79\%$ 에서 동량의 TTX를 전처리 한 후에는 $25.47 \pm 3.46\%$ 로 유의성 있게 억제되었으나, NKA(3×10^{-8} M)에 의한 수축활성은 TTX에 아무런 영향을 받지 않았다(Fig 6B).

고 찰

Tachykinin(SP, NKA, NKB)류들은 포유류 및 어류의 위장관 평활근에 대하여 강력한 수축작용을 나타내며, 이와 같은 작용은 위장관 평활근에 존재하는 tachykinin 수용체에 대한 직접작용과 위장관을 지배하는 내장신경(콜린성 및 세로토닌성 신경)의 자극을 통한 간접적인 방법으로 일어난다고 보고되어 있다(Holmgren, 1983; Holmgren *et al.*, 1985; Barthand Holzer, 1986; Deacon *et al.*, 1987; Kitazawa *et al.*, 1988; Kitazawa *et al.*, 1990; Jesen and Holmgren, 1991; Kim and Hellström, 1993; Lördal and Hellström, 1999). Tachykinin 수용체는 주로 포유류에서 많이 연구되었으며 현재까지 3종류가 밝혀져 있으며, 펩타이드와의 친화력에 의해서 NK-1, NK-2, NK-3 아형으로 분류되어 있다(Mussap and Burcher, 1993; Maggi *et al.*, 1997; Kim and Hellstr, 1993; Ldal and Hellstr, 1999; Regoli *et al.*, 1991). 이들 수용체 각각의 tachykinin 펩타이드에 대한 친화력의 정도는 NK-1 수용체는 SP > NKA > NKB, NK-2 수용체는 NKA > SP > NKB 그리고 NK-3 수용체는 NKB > NKA > SP 순으로 알려져 있다(Guard and Watson, 1991; Mussap *et al.*, 1993). 포유류의 장관 평활근에는 NK-1 및 NK-2 수용체가 모두 존재하며, 특히 NK-2 수용체가 훨씬 우세하게 분포하는 것으로 알려져 있다(Regoli *et al.*, 1988). 반면에, 어류의 경우에는 위장관 평활근의 수축반응에 관여하는 tachykinin 수용체의 특성 및 분포에 관해서는 잘 알려져 있지 않으나, Kitazawa 등(1990)이 잉어 장관을 이용한 실험에서 선택적 NK-1 수용체 효능제인 SP, 선택적 NK-2 수용체 효능제인 NKA, 선택

적 NK-3 수용체 효능제인 NKB등이 모두 강력한 수축작용을 나타내며, 이들의 효능은 NKA > SP > NKB순이라고 보고한바 있다. 한편, 본 연구에서도 SP 및 NKA는 나일틸라피아 및 이스라엘잉어의 장관 평활근에 대하여 농도의존적인 수축반응을 나타내었다. 그러나, 본 실험에서는 이들의 효능 및 효력이 어종에 따라 다소 차이는 있었으나, 이전 포유류 및 잉어의 장관에서 보고된 결과(Kitazawa, 1990; Song and Munekata, 1992; Ldal and Hellstr, 1999)와는 달리 SP가 NKA보다 강력한 수축효과를 나타내었다. 더욱이 이들 tachykinin의 수축작용들은 NK-1 수용체 차단제인 L-732,138에 의해서는 현저하게 억제되었으나, NK-2 수용체 차단제인 MDL 29,913에 의해서는 전혀 영향을 받지 않았다. 이와 같은 사실들로 미루어 보아, 본 실험에 사용된 경골어류인 나일틸라피아와 이스라엘잉어의 장관 평활근에 분포하는 tachykinin 수용체는 포유류와 달리 NK-1 수용체가 주로 분포한다고 추정된다.

한편, tachykinin 펩타이드들에 의한 포유류 및 어류의 위장관 평활근의 수축반응은 무스카린성 수용체 차단제인 atropine 및 신경절 차단제로 알려진 TTX에 의해서 억제되어진다고 보고되고 있는데 (Song and Munekata, 1992), 이와 같은 사실은 위장관 평활근을 지배하는 내장성 콜린성 신경의 자극도 tachykinin 펩타이드에 의한 위장관 평활근의 수축작용에 관여함을 암시한다. 본 실험에서도 나일틸라피아와 이스라엘잉어에서 SP에 의한 수축활성이 무스카린성 수용체 차단제인 atropine 및 신경절 차단제로 알려진 TTX에 의해서 유의하게 감소되었다. 그러나, NKA에 의한 수축반응은 atropine 및 TTX에 의해서 어떠한 영향도 받지 않았다. 이러한 결과들로 미루어 나일틸라피아와 이스라엘잉어에서 SP에 의한 수축반응에는 위장관 평활근에 존재하는 내장성 콜린성신경이 관여하는 반면에 NKA에 의한 수축반응에는 내장성 콜린성신경이 관여하지 않음을 암시해준다. 이상의 결과들을 종합해 보면, SP 및 NKA는 나일틸라피아 및 이스라엘잉어의 장관 평활근에 대하여 강력한 수축효과를 나타내나 그 작용기전은 다르다고 추정된다. 즉, SP에 의한 수축작용은 NK-1수용체를 통한 직접작용 이외에도 콜린성 신경말단(cholinergic nerve terminal)을 자극하는 간접적인 경로를 통하여 매개되는

반면에, NKA는 tachykinin 수용체를 통한 직접작용으로 수축작용을 나타내는 것으로 사료된다.

요 약

본 연구에서는 경골어류인 나일틸라피아(*Oreochromis niloticus*)와 이스라엘잉어(*Cyprinus carpio*)의 장관에 대한 neurokinin-1(NK-1) 수용체 효능제인 substance P(SP)와 neurokinin-2(NK-2) 수용체 효능제인 neurokinin A(NKA)의 수축활성과 작용기전을 비교 분석하였다. SP와 NKA는 모두 나일틸라피아와 이스라엘잉어의 장관 평활근에 대하여 농도 의존적인 수축반응을 나타내었다. 그러나 이들에 의한 수축반응의 경향은 어종에 따라 다르게 나타났다. 즉, 나일틸라피아 장관 평활근에 대하여서는 SP가 NKA에 비하여 높은 친화력과 효능을 나타내었으나, 이스라엘잉어의 장관 평활근에 대하여서는 SP와 NKA의 수축반응은 유의한 차이가 없었다. 나일틸라피아 및 이스라엘잉어의 장관 평활근에 대한 SP와 NKA의 수축반응들은 모두 NK-1 수용체 차단제인 L-732,138에 의해서는 비경쟁적으로 길항되었으나, NK-2 수용체 차단제인 MDL 29913에 의해서는 영향을 받지 않았다. 한편, 선택적 무스카린성 수용체 길항제인 atropine($5 \times 10^{-7}M$) 및 신경절 차단제인 tetrodotoxin($2 \times 10^{-7}M$)은 나일틸라피아 및 이스라엘잉어의 장관 평활근에 있어서 SP에 의해 유발된 수축반응들은 모두 유의성 있게 억제시켰으나, NKA에 의해 유발된 수축반응들에 대하여서는 유의성 있는 영향을 나타내지 않았다.

이상의 결과들을 종합하여 보면, SP 및 NKA는 모두 어류의 장관 평활근에 대하여 강력한 수축효과를 나타내나 그 작용기전은 다르다고 추정된다. 즉, SP 및 NKA의 장관 수축작용은 주로 장관 평활근에 존재하는 NK-1 수용체를 매개한 직접적인 작용에 기인하는 것으로 사료되나 SP의 경우에는 tachykinin 수용체를 통한 직접작용 이외에도 콜린성 신경말단(cholinergic nerve terminal)을 자극하는 간접적인 경로도 관여하는 것으로 추정된다.

사 사

본 연구는 부경대학교 해양식량자원개발 특성화

사업단의 1차년도 연구비 지원에 의하여 수행되었습니다.

참고문헌

- Barth, L. and Holzer, P. : Search for a physiology role of substance P in gastrointestinal motility. *Neuro.*, 16 : 1-32, 1986.
- Buck, S. H. and Krstenansky, J. L. : The dogfish peptides scyliorhinin and scyliorhinin II bind with differential selectivity to mammalian tachykinin receptors. *Euro. J. Pharmacol.*, 144 : 109-111, 1987.
- Conlon, J. M., Deacon, C. F., O'Tool L. and Thim. L. : Scyliorhinin I and II : two novel tachykinins from dogfish gut. *FEBS Lett.*, 200 : 111-116, 1986.
- Christian, J. M., Chrissy, S. and Elizabeth, B. : Radioligand binding, autoradiographic and functional studies demonstrate tachykinin NK-2 receptors in dog urinary bladder. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 279(1) : 423-434, 1996.
- Deacon, C.F., Agoston, D.V., Nau, R. and Conlon, J. M. : Conversion of neuropeptide K to neurokinin A and substance P in neurons of the guinea pig small intestine. *J. Neurochem.*, 48 : 141-146, 1987.
- D'Orléans-Juste, P., Dion, S., Mizrahi, J. and Regoli, D. : Effect of peptides and non-peptides on isolated arterial smooth muscles role of endothelium. *Euro. J. Pharmacol.*, 114 : 9, 1985a.
- D'Orléans-Juste, P., Dion, S., Drapeau, G., and Regoli, D. : Different receptors are involved in the endothelium-mediated relaxation and the smooth muscle contraction of the rabbit pulmonary artery in response to substance P and related neurokinins. *Euro. J. Pharmacol.*, 125 : 37-44, 1985b.
- El Sалhy, M. : Immunocytochemical Investigation of the Gastro-entéro-pancreatic(GEP) Neurohormonal Peptides in the Pancreas and Gastrointestinal Tract of the Dogfish, *Squalus acanthias*, *Histochemistry*, 80 : 193-205, 1984.
- Gaudreau, P., Barab, J., St-Pierre, S. and Regoli, D. : Pharmacological studies of kinins on venous smooth muscles. *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, 59 : 371, 1981.
- Harmar, A. J. : Three tachykinins in mammalian brain, *Trends Neurosci.* 7 : 57, 1984.
- Holmgren, S. : The effect of Putative Non-adrenergic, Non-cholinergic Autonomic Transmitters on Isolated Strips from the Stomach of the Rainbow Trout, *Salmo gairdneri*, *Comp. Biochem. Physiol.*, 74C : 229-38, 1983.
- Holmgren, S. : Substance P in the Gastro-intestinal Tract of *Squalus acanthias*, *Mole. Physiol.*, 8 : 119-30, 1985.

- Holmgren, S., Grove, D. J., and Nilsson, S. : Substance P acts by releasing 5-hydroxytryptamine from enteric neurons in the stomach of the rainbow trout, *Salmo gairdneri*. *Neuro.*, 14 : 683-693, 1985.
- Holmgren, S. and Nilsson, S. : Bombesin-, Gastrin/CCK-5-Hydroxytryptamin-, Neurotensin-, Somatostatin- and VIP-like Immunoreactivity and Catecholamin Fluorescence in the Gut of the Elasmobranch, *Squalus anathias*, *Cell. Tiss. Rese.*, 234 : 595-618, 1983.
- Holmgren, S., Vaillant, C. and Dimaline R. : VIP-, Substance P, Gastrin/CCK-, Bombesin-, Somatostatin- and Glucagone-like immunoreactivity in the Gut of Rainbow Trout, *Salmo gairdneri*, *Cell and Tissue Research*, 223 : 141-53, 1982.
- Hua, X., Lundberg, J. M., Theodorsson-Norheim, E. and Brodin, E. : Comparison of cardiovascular and bronchoconstrictor effects of substance P, substance K and tachykinins. *Naunyn-Schmiedeb. Arch. Pharmacol.*, 328 : 196, 1984.
- Jensen, J. and Conlon, J. M. : Substance-P-related and neurokinin-A-related peptides from the brain of the cod and trout. *Eur. J. Biochem.*, 206 : 659-664, 1992.
- Jensen, J. and Holmgren, S. : Neurotransmitters in the Intestine of the Atlantic Cod, *Gadus morhua*, *Comp. Biochem. Physiol.*, 82C : 81-9, 1985.
- Jensen, J. : Substance and other tachykinins. In "The Comparative Physiology of Regulatory Peptides"(S. Holmgren, Ed.). Chapman & Hall. London. pp. 130-149, 1989.
- Jensen, J. and Holmgren, S. : Tachykinins and Intestinal Motility in Different Fish Groups. *Gen. Com. Endocrinol.*, 83 : 388-396, 1991.
- Jordan, C. C. and Oehme, P., eds. : Substance P : Metabolism and Biological Actions, Taylor and Francis, London, 1985.
- Kim, Y. C. and Hellstr, P. M. : Identification of mechanisms for duodenal contraction induced by tachykinins in the rat. *J. Gastrointest. Mot.*, 5 : 97-106, 1993.
- Kitazawa, T., Kinura, A., Furuhashi, H., Temma, K. and Kondo, H. : Contractile response to substance P in isolated smooth muscle strips from the intestinal bulb of the carp(*Cyprinus carpio*). *Comp. Biochem. Physiol.*, 88C : 277-285, 1988.
- Kitazawa, T., Tsukasa, H. and C. Akihito. : Effects of some autonomic drugs and neuropeptides on the mechanical activity of longitudinal and circular strips isolated from the carp intestinal bulb(*Cyprinus carpio*). *Comp. Biochem. Physiol.*, 97C(1), 13-24, 1990.
- Lördal, M. and Hellström, P. M. : The tachykinins neurokinin A and substance P, but not neurokinin B, stimulate contraction of isolated muscle cells from rat small intestine. *Acta. Physiol. Scand.*, 166 : 75-76, 1999.
- Maggi, C. A., Catalioto, R. M., Criscuoli, M., Cucchi, P., Giuliani, S., Lecci, A., Lippi, A., Meini, S., Patacchini, R., Renzetti, A. R., Santicoli, P., Tramontana, M., Zagorodnyuk, V. and Giachetti, A. : Tachykinin receptors and intestinal motility, *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, 75(6) : 696-703, 1997.
- Mussap, C.J. and Burcher, E. : Characterization and autoradiographic localization of tachykinin receptors in rat gastric fundus. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 266(2) : 1043-1053, 1993.
- Mussap, C.J., Gerahty, D.P. and Burcher, E. : Tachykinin receptors : A radioligand binding perspective. *J. Neurochem.*, 60 : 1987-2009, 1993.
- Regoli, D., Drapeau, G., Dion, S. and Couture, R. : New selective agonists for neurokinin receptors : Pharmacological tools for receptor characterization. *Trends in Pharmacol. Sci.*, 9 : 290-295, 1988.
- Regoli, D., Nantel, F., Tousignant, C., Jukic, D., Roussi, N., Rhaleb, N.-E., Telemaque, S., Drapeau, G. and D'Orléansjust, P. : Neurokinin agonists and antagonists. *Ann. NY. Acad. Sci.*, 632 : 170-183, 1991.
- Song Y. S., and Munekata E. : Tachykinin Peptide. *Saengwhahak nyusu*, 12(4) : 242-249, 1992.
- Von Euler, U. S., and Ostlund, Y. : Occurrence of a Substance P-like Polypeptide in Fish Intestine and Brain. *Brit. J. Phar.*, 11 : 325-5, 1956.
- Von Euler, U. S., and Ostlund Y. : Effects of certain biologically occurring substances on the isolated intestine of fish. *Acta Physiol. Scand.*, 38 : 364-372, 1957.