

Substance P-related peptide들과 유도체의 구조 및 혈관이완 활성

김은정 · 김찬희 · 고혜진 · 김인혜 · 안상현 · 손희영 · 박희연¹
 윤호동¹ · 장영채² · 홍용기 · 박남규*
 부경대학교 수산과학대학 생물공학과, ¹국립수산과학원 생명공학연구단
²대구가톨릭대학교 의과대학

Structure and Arterial Relaxing Activity of Substance P-related Peptides and Substance P analogs

Eun Jung KIM, Chan-Hee KIM, Hye-Jin GO, In Hae KIM, Sang Hyun AN, Hee-Young SOHN, Hee Yeon PARK¹, Ho Dong YOON¹, Young-Chae CHANG², Yong-Ki HONG and Nam Gyu PARK*

Department of Biotechnology and Bioengineering, Faculty of Food Science and Biotechnology, Pukyong National University, Busan 608-737, Korea

¹Biotechnology Research, National Fisheries Research & Development Institute, Busan 619-900, Korea

²Department of Pathology, School of Medicine, Catholic University of Daegu, Daegu 705-718, Korea

Relationship between structure and biological activity was performed using the five substance P-related peptides (SPRPs) [mammalian-SP (M-SP), cod-SP (C-SP), trout-SP (T-SP), lungfish-SP (L-SP) and Ranakinin] and four SP analogs [[His³]-SP (5H-SP), [Gly⁵]-SP (5G-SP), [Ile⁸]-SP (8I-SP) and [Trp⁸]-Ranakinin (8W-Ranakinin)]. The circular dichroism (CD) spectra showed that all of the peptides took an unordered structure in buffer solution and artificial liposomes. However, 8W-Ranakinin undergoes conformational changes by being transferred into neutral and acidic liposomes from an unordered structure to more ordered structure. The arterial relaxing effect of the peptides was also studied with guinea-pig aorta (GPA). As a result of the studies, L-SP was about 14-fold more potent than M-SP. The order of potency compared to EC₅₀ value was L-SP>>M-SP>5G-SP>8I-SP>5H-SP>T-SP, C-SP, Ranakinin, 8W-Ranakinin.

Key words: CD spectra, Guinea-pig aorta, Relaxing activity, Substance P, Peptide

서 론

Tachykinin peptide는 구조적으로 C-말단에 -Phe-Xaa-Gly-Leu-Met-NH₂의 pentapeptide를 공통적으로 가지고 있으며, substance P (SP)와 neurokinin A (NKA)를 비롯하여 NKA의 확장된 형태인 neuropeptide γ (NP γ)와 neuropeptide K 및 neurokinin B (NKB)가 대표적으로 알려져 있다(Liu et al., 2002). 이들은 central nervous system, primary afferent neuron과 enteric nervous system에서 분비되는 신경전달물질로써 평활근 수축, 혈관이완, 분비촉진 및 신경흥분과 같은 다양한 기능을 수행한다(Otsuka and Yoshioka, 1993). 이러한 활성들은 G-protein이 연관된 수용체를 경유하여 나타나며, SP에 감수성을 갖는 NK₁-수용체, NKA와 NP γ 에 감수성을 갖는 NK₂-수용체 및 NKB에 감수성을 갖는 NK₃-수용체가 알려져 있다(Patacchini and Maggi, 1995).

SP는 말의 뇌와 장의 알코올 추출물에서 아트로핀에 의해 억제되지 않는 평활근 수축작용을 가지는 물질로써 최초로 발견되었고(von Euler and Gaddum, 1931), 생체에 존재하는

NKA, NP γ 및 NKB의 총량보다 많은 양이 존재하고 있음이 밝혀졌다(Helke et al., 1990). SP의 완전한 일차구조는 1971년 bovine hypothalamic tissue로부터 규명되었다(Chang et al., 1971). 최근 포유류 유래의 SP (M-SP: RPKPQQFFGLM-NH₂)와 구조적으로 상동성을 갖는 SP-related peptides (SPRP)가 cod (*Gadus morhua*) (Jensen and Conlon, 1992), trout (*Oncorhynchus mykiss*) (Jensen and Conlon, 1992), lungfish (*Neoceratodus forsteri*) (Liu et al., 2002) 및 frog (*Rana ridibunda*) (O'Harte et al., 1991) 등으로부터 분리정제되어 그 일차구조가 밝혀졌다. 특히 M-SP는 돼지의 관상동맥과 guinea-pig aorta (GPA)의 혈관 내피세포에 존재하는 NK₁-수용체를 경유하여 endothelium derived relaxing factor를 방출시킴으로써 혈관 평활근에 대해 강한 이완활성을 가짐이 밝혀진 바 있다(Saito et al., 1990).

또한, circular dichroism (CD) spectra와 NMR을 이용한 M-SP의 구조연구 결과, micelle 표면에서 SP의 구조는 hydrophobic force에 의해 크게 좌우되며, SP가 막과 결합하는 양은 electrostatic interaction에 의해 결정된다고 보고된 바 있다(Keire and Fletcher, 1996). 이전의 연구에서 SP는 C-말단부위에 α -

*Corresponding author: ngpark@pknu.ac.kr

helix 구조를 포함하고 있으며, 이들 구조가 수용체와 결합함에 있어 중심적 요소임이 규명되었다(Keire and Fletcher, 1996; Auge et al., 2000). 뿐만 아니라, 수용체에 대한 선택적인 효현제를 개발하기 위한 유도체들이 제작되고 있으며, [Sar⁹, Met(O₂)¹¹]SP는 rat urinary bladders에서 효현제로 작용하였음이 보고된 바 있다(Rouissi et al., 1993). Table 1에 나타낸 M-SP와 SPRP들의 일차구조를 비교해 보면, 5번째 잔기와 8번째 잔기에서 아미노산의 변화가 일어남을 알 수 있다. 따라서, 이러한 점에 착안하여 구조와 활성간의 상관관계를 알아보기 위해서 Cod-SP (C-SP), Trout-SP (T-SP), Lungfish-SP (L-SP), Ranakinin 그리고 M-SP의 5번째 잔기인 Gln을 His으로 치환한 5H-SP, M-SP의 Phe을 Ile으로 치환한 8I-SP를 합성하였다. 또한, M-SP의 Glu⁵를 Gly⁵로 치환한 5G-SP와 Ranakinin의 8번째 잔기를 Trp으로 치환한 유도체(8W-Ranakinin)를 합성하였다. 합성 펩타이드의 일차구조는 CD spectra를 이용하여 완충액, 중성 및 산성지질하에서 조사하였고, 아울러 guinea-pig aorta (GPA)에 대한 이완활성을 조사하였다.

Table 1. The primary structure of SP-related peptide (SPRP) used in this study

Structural feature	Sequence	Molecular Mass	
		Calculated	Observed
Mammalian SP	RPKPQQFFGLM-NH ₂	1,347.9	1,349.8
SPRP			
T-SP	KPRPHQFFGLM-NH ₂	1,356.9	1,357.2
C-SP	KPRPQQFGLM-NH ₂	1,313.7	1,314.3
L-SP	KPRPDQFYGLM-NH ₂	1,350.9	1,350.7
Ranakinin	KPNPERFYGLM-NH ₂	1,350.8	1,351.0
SP analogs			
5H-SP	RPKPHQFFGLM-NH ₂	1,356.7	1,357.9
5G-SP	RPKPGQFFGLM-NH ₂	1,276.6	1,277.0
8I-SP	RPKPQQFGLM-NH ₂	1,313.7	1,314.3
8W-Ranakinin	KPNPERFWGLM-NH ₂	1,373.6	1,374.0

재료 및 방법

일반시약

펩타이드 합성에 사용한 Fmoc-아미노산 유도체와 Fmoc-NH-PAL-resin, DMF, piperidine, 1-hydroxybenzotriazole, *N,N*-Diisopropylcarbodiimide 및 trifluoroacetic acid는 Watanabe사 (Hiroshima, Japan)에서 구입하였다. 1,2-ethanedithiol, *m*-cresol과 thioanisole은 Wako사(Osaka, Japan)에서 구입하였으며, N-tris[hydroxymethyl]-2-aminoethanesulfonic acid (TES), egg-yolk phosphatidylcholine (EYPC)와 egg-yolk phosphatidylglycerol (EYPG)는 Sigma사(St. Louis, USA)에서 구입하였다.

SPRP와 SP analog들의 합성 및 정제

Table 1에 나타낸 펩타이드들은 이전의 방법과 동일한 Fmoc-법에 따라 합성하였다(Park et al., 1997). 분자량은 MALDI-TOF (Voyager-DETM PRO, Applied Biosystems, Forster City, CA, USA)에 의해 결정하였으며, 이들의 이론치와 실험치의 분자량

은 각각 다음과 같다: M-SP; base peak, 1349.8, C₆₃H₉₈O₁₈N₁₃S₁, 1347.9, C-SP; base peak, 1314.3, C₆₀H₉₇O₁₃N₁₈S₁, 1313.7, T-SP; base peak, 1357.2, C₆₄H₉₇O₁₂N₁₉S₁, 1356.9, L-SP; base peak, 1350.7, C₆₂H₉₅O₁₅N₁₇S₁, 1350.9, Ranakinin; base peak, 1351.0, C₆₂H₉₅O₁₅N₁₇S₁, 1350.8, 5H-SP; base peak, 1357.9, C₆₄H₉₇O₁₂N₁₉S₁, 1356.7, 5G-SP; base peak, 1277.0, C₆₀H₉₅O₁₂N₁₇S₁, 1276.6, 8I-SP; base peak, 1314.3, C₆₀H₁₀₀O₁₈N₁₃S₁, 1313.7, 8W-Ranakinin; base peak, 1374.0, C₆₄H₉₆O₁₄N₁₈S₁, 1373.6.

Circular Dichroism (CD) spectra

CD spectra는 1 mm path length의 quartz cell을 사용하는 JASCO J-600 spectropolarimeter로 이전의 방법과 동일하게 측정하였다(Park et al., 1997). Small unilamellar vesicles (SUVs)는 이전의 연구방법과 동일하게 조제하였다(Park et al., 1997). SUVs는 각각 중성 및 산성 지질로 EYPC, EYPC:EYPG (3:1)의 조성으로 지질을 만들었다.

이완활성 측정

Guinea-pig(웅성 Albino Hartly, 260-300 g)의 복부를 절개한 후 대동맥(GPA)을 적출하였다. 대동맥의 결체조직과 지방조직을 현미경 아래에서 제거시킨 후, 2 mm 길이의 ring으로 잘랐다. 각 ring을 force displacement transducer (NEC-Sanei, Tokyo, Japan)와 L-shaped wire (US-5, Kyoto, Japan)로 연결되어 있는 5 mL 반응조에 걸어, 2시간 동안 안정화 시킨 후, resting tension이 1.0 g이 되도록 하였다. 이때, 10분 간격으로 완충액을 교체해 주었고, 실험전 3회의 50 mM high K⁺ 용액으로 평형화 상태를 확인하였다. 이후 prostaglandin F_{2α} (PGF_{2α}, 1×10⁻⁵ M)로 수축시켜 peptide를 농도의존적으로 투여하였다. 모든 과정은 Krebs 완충액하에서 행하였고, 조성은 다음과 같다: (mM) NaCl 118.7, KCl 4.7, CaCl₂ 1.8, KH₂PO₄ 1.2, MgSO₄ 1.2, NaHCO₃ 24.8, glucose 10.1. 반응조는 37°C로 유지되었고, 95% O₂와 5% CO₂의 혼합 gas를 공급하였다. 반응의 크기는 PGF_{2α} (1×10⁻⁵ M)에 의한 수축반응을 100%로 하여 peptide 투여에 따른 이완율을 상대적으로 나타내었다.

통계처리

이완활성은 PGF_{2α} (1×10⁻⁵ M)의 최대수축에 대한 상대적 이완 %로서 나타냈다. 한편, 반응의 크기는 EC₅₀ (PGF_{2α} (1×10⁻⁵ M)의 최고 수축을 50% 이완시키는 농도) 및 E_{max} (PGF_{2α} (1×10⁻⁵ M)의 최고 수축에 대해 최대 이완을 나타내는 농도)로서 비교하였다. 통계적 처리는 student's t-test로 하였으며, 모든 반응 값은 means±s.e.로 표시하였다.

결 과

펩타이드의 합성

SP들의 활성 및 CD spectra를 측정하기 위해 Table 1에 나타낸 9종류의 SP들을 고상합성법을 이용하여 합성하였다. MALDI-TOF mass를 이용하여 분자량 측정결과, 모든 펩타이드에 대한 분자량 측정치는 이론값과 일치하였다 (Table 1).

CD spectra

합성한 9종류 SP들의 이차구조를 알아보기 위해 TES 완충액, 중성지질 및 산성지질 하에서 CD spectra를 측정하였다. 완충액 조건하에서 200 nm에서 negative maximum을 지나는 전형적인 random 구조를 취하였다(Fig. 1A와 2A). 또한, 중성 및 산성 지질 조건하에서도 대부분 SPRP 및 SP 유도체들은 random한 구조를 형성하였다(Fig. 1B, C 및 2B, C). 그러나, 8W-Ranakinin은 TES에서와는 달리 중성지질하에서 202 nm에서 negative maximum 값을 갖는 변화된 spectrum을 보였고(Fig. 2B), 산성지질하에서는 195 nm와 210 nm부근에서 극소 값을 갖는 형태의 spectrum을 보였다(Fig. 2C). 이러한 8W-Ranakinin의 spectrum의 변화는 TES상에서 불규칙한 구조가 인공막하에서 더 규칙적인 구조로 변화되었음을 의미한다.

GPA에 대한 이완활성 측정

모든 합성 펩타이드들의 혈관 이완활성을 알아보기 위해 GPA를 이용하였다. Table 2는 GPA에 대한 합성 펩타이드들의 혈관 이완활성의 지표인 EC₅₀ 및 E_{max}값을 나타낸다. Fig. 3A는 GPA에 대한 M-SP와 SPRP들(C-SP, T-SP, L-SP 및 Ranakinin)

의 농도 의존곡선을 나타냈으며, 이들의 효력은 EC₅₀값을 토대로 비교하였다. GPA에서 L-SP는 M-SP보다 14배 이상 높은 효력을 나타냈지만, T-SP, C-SP 및 Ranakinin은 M-SP보다 현저히 낮은 활성을 나타내었다. 이들의 효력의 세기는 L-SP >> M-SP >> C-SP, T-SP, Ranakinin 순이었다.

또한, Fig. 3B는 M-SP와 SP 유도체들(5H-SP, 5G-SP, 8I-SP 및 8W-Ranakinin)의 농도 의존 곡선을 나타낸다. M-SP는 5G-SP와 8I-SP보다 약 1.4배와 1.6배의 높은 활성을 보였지만, 5H-SP와 8W-Ranakinin은 현저히 낮은 이완활성을 나타내었다. 이들의 효력의 세기는 M-SP > 5G-SP > 8I-SP > 5H-SP, 8W-Ranakinin 순이었다.

고 찰

SP는 11개의 아미노산으로 이루어져 있으며, N-말단 1번째에서 5번째까지의 아미노산들은 address segment, 6번째에서 11번째까지의 아미노산들은 message segment로 알려져 있다. 또한, 5개의 보존된 아미노산 서열 앞에 위치한 아미노산이 charge를 갖는 경우 수용체와의 상호작용이 강하게 혹은 약하

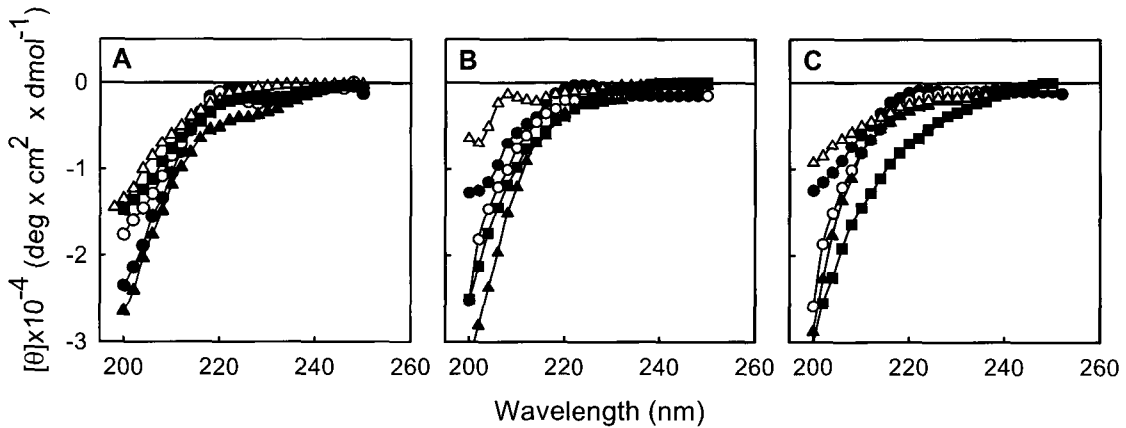


Fig. 1. The CD spectra of SPRPs in TES (A), in the presence of EYPC liposomes (B) and EYPC:EYPG (3:1) liposomes (C). M-SP (●), T-SP (○), C-SP (▲), L-SP (△) and Ranakinin (■).

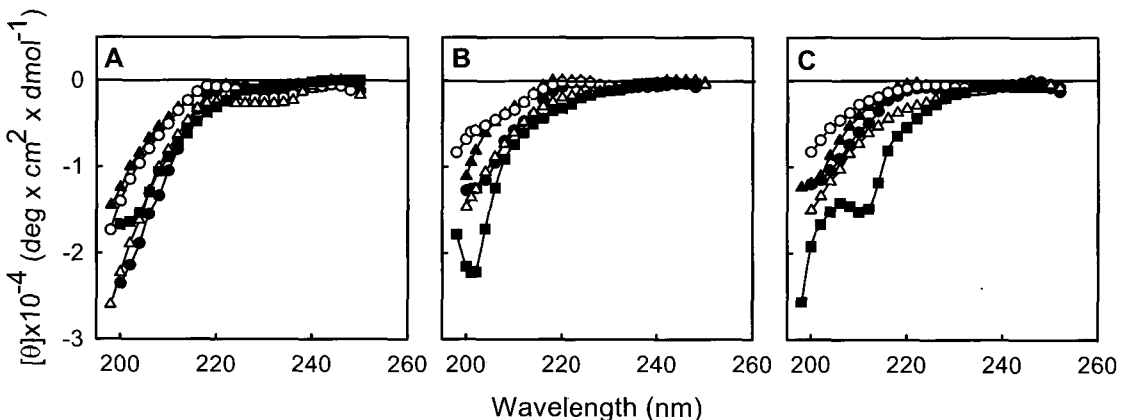


Fig. 2. The CD spectra of SP analogs in TES (A), in the presence of EYPC liposomes (B) and EYPC:EYPG (3:1) liposomes (C). M-SP (●), 5H-SP (○), 5G-SP (▲), 8I-SP (△) and 8W-Ranakinin (■).

Table 2. EC₅₀, RP and E_{max} of SP-related peptides (SPRP) and SP analogs induced relaxation in GPA

	SPRP				SP analogs				
	M-SP	T-SP	C-SP	L-SP	Ranakinin	5H-SP	5G-SP	8I-SP	8W-Ranakinin
EC ₅₀ (nM)	10	- ^b	-	0.7	-	-	14	16	-
RP ^a	100	-	-	1429	-	-	71	63	-
E _{max} (M)	10 ⁻⁶ (61±8)	10 ⁻⁶ (37±3%)	10 ⁻⁶ (38±3%)	10 ⁻⁶ (86±4%)	10 ⁻⁶ (48±2%)	10 ⁻⁶ (38±3%)	10 ⁻⁶ (67±4%)	10 ⁻⁶ (64±6%)	10 ⁻⁶ (47±10%)

^aRatio of potency relative to M-SP.

^bNo factor because they didn't represent significant relaxation.

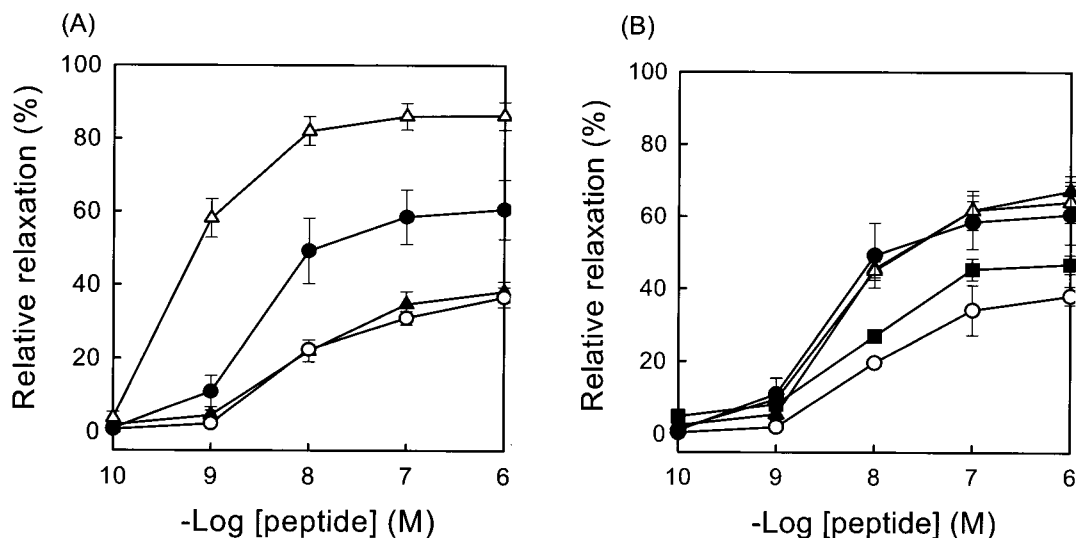


Fig. 3. Concentration response curves of tachykinins and analogs in guinea-pig aorta. Data were expressed as a percentage of the maximal response to the PGF_{2α} (5×10⁻⁷ M). Each point represented the mean±s.e., of determination in 4 animals. (A) M-SP (●), T-SP (○), C-SP (▲), L-SP (△) and Ranakinin (■). (B) M-SP (●), 5H-SP (○), 5G-SP (▲), 8I-SP (△) and 8W-Ranakinin (■).

게 나타날 뿐만 아니라, side chain의 길이도 매우 중요하게 작용함이 밝혀진 바 있다(Comis and Burcher, 1999). 특히, M-SP, C-SP, T-SP 및 L-SP의 일차구조는 60% 이상의 homology를 가지지만, N-말단의 첫 번째에서 5번째까지의 아미노산 조성에 있어 차이를 보인다(Table 1). T-SP와 L-SP는 5번 위치에 각각 His⁵ (+)와 Asp⁵ (-)를 포함하고 있으며, M-SP의 Arg¹과 Lys³은 SPRP들에서 Lys¹과 Arg³으로 치환되어 있다. 또한, 8번째 잔기는 SPRP들에서 주로 방향족 아미노산 (Phe와 Tyr 등)이 위치하나, C-SP는 비극성 지방족 아미노산인 Ile을 포함하고 있다. CD 연구결과, SPRP와 SP 유도체들의 일차구조에서 N-말단부위의 차이를 보임에도 불구하고, 완충액 및 인공지질막하에서 거의 유사한 spectrum을 나타냈다(Fig. 1과 2). 그러나, SP 중 8W-Ranakinin은 산성 및 중성지질막 존재하에서 완충액에서와는 다른 형태의 spectrum을 나타냈다. 이러한 결과는 인공지질막하에서 보다 더 규칙적인 구조로의 변화를 의미하며, 이는 Trp⁸의 치환에 의한 결과로 사료된다. NMR과 CD를 이용한 이전의 연구에서, M-SP의 C-말단 9개의 아미노산이 산성지질막에 대해 수직으로 α-helix를 형성하여 막과

결합한다는 연구가 보고된 바 있다(Keire and Fletcher, 1996; Schwyzer, 1987). 그러나, 본 연구에서 모든 SP들의 구조는 random한 형태로 나타났다. 이러한 결과의 차이는 실험에 사용한 인공막으로 EYPC 및 EYPG를 이용한 본연구와 달리 이전의 연구에서는 SDS 혹은 DPC micelles을 사용하였기 때문에 이차구조의 변화가 발생한 것으로 생각된다.

한편, GPA를 이용한 이완활성 연구에서 L-SP의 활성이 M-SP보다 약 14배 이상 높게 나타났고, 5G-SP, 8I-SP는 M-SP와 유사한 활성의 크기를 보였다. 반면, C-SP와 T-SP, 5H-SP는 M-SP보다 10배 정도 낮은 활성을 보였다. 합성한 SP들의 활성크기는 L-SP>>M-SP>5G-SP>8I-SP>5H-SP>T-SP, C-SP, Ranakinin, 8W-Ranakinin 순이었다.

L-SP와 5H-SP의 결과에 의하면, 5번째 위치한 Asp가 막 혹은 수용체와 상호작용을 함에 있어 중요한 역할을 하며, 이와는 대조적으로 His은 수용체와의 상호작용을 방해한다는 것을 제시한다. 특히, L-SP의 이완활성이 다른 SP들보다 현저히 높은 것은 5번째 잔기에 위치한 Asp에 의해 기인된 것으로 생각되며, 이는 Asp⁵가 Lys¹ 또는 Arg³과 salt bridge를 형성하

여 수용체와 상호작용이 용이한 안전한 구조를 취한 결과인 것 같다. 또한, SPRP들과 SP 유도체들의 활성을 비교한 결과, 대부분의 SPRP의 활성이 SP 유도체들보다 낮게 나타났다. 이러한 본 연구의 결과는 SPRP와 SP 유도체들이 80% 가량의 유사성을 가짐에도 불구하고 Arg¹→Lys¹, Lys³→Arg³로 치환됨으로써 수용체와의 결합력이 저해되어 나타나는 결과로 생각된다. 특히, Lys과 Arg는 (+) charge를 갖는 아미노산이지만 Lys과는 다르게 Arg는 구아니딘기(guanidine group)를 가지고 있으며, Arg이 일차구조 중간에 위치하는 것보다 구조적으로 앞쪽에 위치하는 것이 GPA에서 이완활성을 나타내는데 있어 유리하다는 것을 본 연구 결과는 제시한다. 게다가, CD 연구에서 다른 형태의 spectrum을 보인 8W-Ranakinin의 활성은 Ranakinin과 유사하였다. 따라서, Trp의 치환은 이차구조의 변화에는 영향을 미치지지만 이완활성에 있어서는 결정적인 역할을 하지 못하였다.

결론적으로 N-말단의 아미노산 조성의 변화는 2차구조에 영향을 미치지 못하였으나, C-말단의 Trp은 구조 변화에 결정적인 역할을 하였다. 그러나, GPA에서 이완활성을 나타냄에 있어 2차구조의 변화는 영향을 미치지 않았으며, charge를 가진 Asp⁵가 GPA에서 이완활성을 나타냄에 있어 큰 영향을 미친다는 것을 본 연구는 제시한다.

사 사

본 연구는 2004년도 KSGP (Korea Sea Grant Program)과제에 의해 수행되었습니다.

참 고 문 헌

- Auge, S., B. Bersch, M. Tropis and A. Milon. 2000. Characterization of substance P-membrane interaction by transferred nuclear overhauser effect. *Biopolymers*, 54, 297-306.
- Chang, M.M., S.E. Leeman and H.D. Niall. 1971. Amino acid sequence of substance P. *Nat. New Biol.*, 232, 86-87.
- Comis, A. and E. Burcher. 1999. Structure activity studies at the rat tachykinin NK2 receptor: effect of substitution at position 5 of neurokinin A. *J. Pept. Res.*, 53, 337-342.
- Helke, C.J., J.E. Krause, P.W. Mantyh, R. Couture and M.J. Bannon. 1990. Diversity in mammalian tachykinin peptidergic neurons: multiple peptides, receptor and regulatory mechanisms. *FASEB J.*, 4, 1606-1615.
- Jensen, J. and J. M. Conlon. 1992. Substance P-related and neurokinin-A-related peptides from the brain of the cod and trout. *Eur. J. Biochem.*, 206, 659-664.
- Keire, D.A. and T.G. Fletcher. 1996. The conformation of substance P in lipid environments. *Biophys. J.*, 70, 1716-1727.
- Liu, L., J.M. Conlon, J.M.P. Joss and E. Burcher. 2002. Purification, characterization, and biological activity of a substance P-related peptide from the gut of the Australian lungfish, *Neoceratodus forsteri*. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 125, 104-112.
- O'Harte, F., E. Burcher, S. Lovas, D.D. Smith, H. Vaudry and J.M. Conlon. 1991. Ranakinin: a novel NK1 tachykinin receptor agonist isolated with neurokinin B from the brain of the frog *Rana ridibunda*. *J. Neurochem.*, 57, 2086-2091.
- Otsuka, M. and K. Yoshioka. 1993. Neurotransmitter functions of mammalian tachykinins. *Physiol. Rev.*, 73, 229-308.
- Patacchini, R. and C.A. Maggi. 1995. Tachykinin receptors and receptor subtypes. *Arch. Int. Pharmacodyn.*, 329, 161-184.
- Park, N.G., J.K. Seo, H.J. Ku, S. Lee, G. Sugihara, K.H. Kim, J.S. Park and S.W. Kang. 1997. Conformation and biological activity of mastoparan B and its analogs I. *Bull. Kor. Chem. Soc.*, 18, 50-56.
- Rouissi, N., A. Claing, M. Nicolau, D. Jukic, P. D'Orleans-Juste and D. Regoli. 1993. Substance P (NK1-receptor) antagonists: *in vivo* and *in vitro* activities in rats and guinea-pigs. *Life Sci.*, 52, 1141-1147.
- Saito, R., H. Konishi, Y. Takano, S. Nonaka, K. Sakaguchi, Y. Shimohigashi and H. Kamiya. 1990. Characterization of tachykinin receptors in endothelial cells of porcine artery. *Neurosci. Lett.*, 110, 337-342.
- Schwyzler, R. 1987. Membrane-assisted molecular mechanism of neurokinin receptor subtype selection. *EMBO J.*, 6, 2255-2259.
- von Euler, U.S. and J.H. Gaddum. 1931. An unidentified depressor substance in certain tissue extracts. *J. Physiol.*, 72, 74-87.

2005년 4월 30일 접수

2005년 6월 27일 수리