

# 기니피그 위 평활근의 자발적 수축과 전기적 활동에 대한 $Ca^{2+}$ 및 $Ca^{2+}$ -길항제 영향

서울대학교 의과대학 생리학교실

이 상 호 · 김 기 환

(1987년 11월 9일 접수)

= Abstract =

## Effects of $Ca^{2+}$ and $Ca^{2+}$ -antagonists on the Spontaneous Contractions and Electrical Activities of Guinea-pig Stomach

Sang Ho Rhie and Ki Whan Kim

*Department of Physiology, College of Medicine, Seoul National University*

The effects of external  $Ca^{2+}$  and  $Ca^{2+}$ -antagonists on the spontaneous contractions and electrical activities were investigated in guinea-pig stomach in order to clarify the mechanism for the generation of slow waves. Electrical responses of circular smooth muscle cells were recorded using glass capillary microelectrodes filled with 3 M KCl. All experiments were performed in tris-buffered Tyrode solution which was aerated with 100%  $O_2$  and kept at 35°C.

The results obtained were as follows:

- 1) The amplitude of spontaneous contractions was maximal at around 2-4 mM  $Ca^{2+}$ , whereas their frequency was inversely related with external  $Ca^{2+}$  within the range of 0.5 to 16 mM  $Ca^{2+}$ .
- 2) Verapamil suppressed the amplitude of spontaneous contraction in a dose-dependent manner, while the frequency of spontaneous contractions was almost not changed over the whole concentration of verapamil (0.01 ~ 5 mg/l).
- 3) Manganese increased both the amplitude and the frequency of spontaneous contractions dose-dependently in low  $Mn^{2+}$  (below 0.05 mM  $Mn^{2+}$ ), while their amplitude and frequency were decreased in high  $Mn^{2+}$  (above 0.1 mM  $Mn^{2+}$ ).
- 4) The amplitude and maximum rate of rise of slow waves were increased in high  $Ca^{2+}$  solution. In  $Ca^{2+}$ -free solution, the spontaneous contractions recorded simultaneously with slow waves ceased and tonic contraction ( $Ca^{2+}$ -free contracture) was developed in parallel with membrane depolarization and the disappearance of slow waves.
- 5) Verapamil (1 mg/l) decreased the amplitude and maximum rate of rise of slow waves and it depolarized the membrane by about 6 mV, whereas the frequency of slow waves was not affected by verapamil.
- 6) Manganese showed different characteristic effects between low and high  $Mn^{2+}$  on the slow waves: In low  $Mn^{2+}$  (0.05 mM  $Mn^{2+}$ ), the initial rapid increases and the subsequent gradual decreases in three parameters of slow waves (amplitude, rate of rise, and frequency of slow waves) till a new steady state were observed. However, in high  $Mn^{2+}$  (0.5 mM  $Mn^{2+}$ ) slow waves disappeared and membrane was depolarized.

\*본 연구에 소요된 경비의 일부는 1986년도 서울대학교 병원 특수임상연구비로 충당되었음.

From the above results, the following conclusions could be made:

- 1)  $Ca^{2+}$  is necessary for a generation of the slow waves, even though it is small amount.
- 2) Verapamil suppresses the spontaneous contractions of gastric antral strip by the decreases in amplitude and maximum rate of rise of slow waves, while this drug does not block the  $Ca^{2+}$ -channel involved in the generation of slow waves.
- 3) Manganese has dual actions on the  $Ca^{2+}$ -channels; the  $Ca^{2+}$ -channel involved in the generation of slow waves (or Na-Ca exchange system) or the channel for the generation of spike potentials are stimulated by a low concentration of  $Mn^{2+}$ , while both the  $Ca^{2+}$  Channels are blocked by high concentration of  $Mn^{2+}$ .

**Key Words:** Gastric circular smooth muscle, Slow waves, Verapamil, Manganese, Calcium

## 서 론

guinea-pig의 위 평활근 특히 유문동 부위의 조직은 결장뉴와 마찬가지로 체외에서도 자발적 수축을 하는 자동능(automatism)을 보이는 바, 단단위성 평활근(單位性 平滑筋, unitary smooth muscle)에 속하고 있다(Prosser & Mangel, 1982).

guinea-pig 위 유문동 평활근 세포에서 기록되는 자발적 전기적 활동에는 2가지 형태가 있다. 즉 서파(徐波, slow wave)와 가시 전압(spike potentials)의 2종류로서 가시전압에는 지나치기 전압(overshoot potential)이 있는 것과 없는 것이 있다(Tomita, 1981). 이러한 모든 전기적 활동은 일차적으로 세포막의  $Ca^{2+}$  투과성이 증가됨으로써 발생되는 것으로 해석되고 있다(Ohba et al., 1977; Tomita, 1981).

$Ca^{2+}$ 은 흥분-수축 연결물질(excitation-contraction coupler)로서 매우 중요한 역할을 하지만, 세포외액 중의  $Ca^{2+}$ 은 또한 세포막의 안정성에도 기여하므로(stabilizing effect) 어느 농도 이상으로 높은 경우에는 오히려 흥분성을 감소시키는 효과도 나타낸다(Bohr, 1964; Kuriyama, 1970).

세포막에 존재하는  $Ca^{2+}$ 통로( $Ca^{2+}$ -channel)를 선택적으로 차단하는 물질, 소위 칼슘-길항제( $Ca^{2+}$ -antagonists)에는 유기제제로 verapamil, D-600, nifedipine, 및 diltiazem 등이 있고, 무기물질로는  $Mn^{2+}$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $Ni^{2+}$ ,  $Cd^{2+}$ , 및  $La^{3+}$  등이 있다. verapamil (Isoptin)은 심근 세포에서 완만내향전류(slow inward current)를 선택적으로 차단하여 심근 수축력을 감소시키는 작용이 있음이 잘 알려져 고혈압 치

료제로서 널리 이용되고 있다(Fleckenstein, 1964; Kohlhardt et al., 1972). 이 약물은 심근 이외에도 혈관 평활근, 자궁근, 소화관 평활근 등에서도  $Ca^{2+}$  유입( $Ca^{2+}$  influx)을 선택적으로 막아 수축성을 떨어뜨리는 작용이 있음이 알려져 있다(Fleckenstein, 1977). verapamil은 위 평활근의 지나치기 전압이나 타나는 가시전압만을 선택적으로 차단하고, 서파나 지나치기 전압이 없는 가시전압(abortive spike potential)에는 억제효과가 없다는 실험보고도 있다(Golenhofen & Lammel, 1972).  $1\sim 2\text{ mM } Mn^{2+}$ 은 결장뉴에서 유발시킨 활동전압을 차단시키고 있으며(Brading et al., 1969), 자궁근에서는  $Ca^{2+}$ 통로의 charge carrier로서  $Mn^{2+}$  current를 만들고 있다(Ochi, 1976). guinea-pig 결장뉴에서 낮은 농도( $10^{-7}\sim 10^{-4}\text{ M } Mn^{2+}$ )의  $Mn^{2+}$ 은 농도 증가에 따라 자발적 수축을 억제시키나 수축빈도는 증가시켰다. 그러나  $1\text{ mM } Mn^{2+}$ 에서는 모든 자발적 활동이 차단되었다(Kim & Kim, 1985). 이와 같이  $Mn^{2+}$ 이온은 verapamil과는 달리 농도에 따라 그 효과가 다르므로 본 실험에서는  $Ca^{2+}$ -길항제로서 유기제제인 verapamil과 무기제제인  $Mn^{2+}$ 의 효과를 비교 분석하였다.

서파발생기전에 관하여는 아직도 학설이 구구하며 동물의 종과 조직에 따라서도 다른 것으로 보인다. 결장뉴의 경우 electrogenic  $Na^{+}$  pump의 주기적 동요에 의하여 생겨난다는 설이 있고(Connor et al., 1974), guinea-pig 위 평활근에서는 electrogenic Na-Ca exchange mechanism이 중요하다는 설이 있으나(Tomita, 1981) 아직 불분명하다.

서파만으로도 자발적 수축이 유발가능하다는 실험 보고가 있으며(Szurszewski, 1975; Sanders, 1983),

세포내  $Ca^{2+}$  농도가 울동적으로 동요하는 것이 서파와 연관되어 있다는 재미있는 관찰보고도 있다 (Mangel et al., 1982).

본 실험은 guinea-pig 유문동 조직을 이용하여 그 발생기전이 아직도 불투명한 서파의 발생기전을 밝혀 보고자,

- 1) 서파유발수축이라고 볼 수 있는 자발적 수축에 대한  $Ca^{2+}$  및  $Ca^{2+}$ -길항제의 효과를 우선 분석하고,
- 2) 자발적 수축에 대한 이들의 작용기전을 규명코자, 서파에 대한 이들의 영향을 비교 분석하였다.
- 3) 또한 막저항(membrane resistance)에 대한 이들의 효과도 측정하여 서파에 대한 효과설명에 기초 자료로 사용하였다.

### 실 험 방 법

체중 300 g내외의 guinea-pig을 암수 구별없이 실험동물로 사용하였다. 후두부를 강타하고 경동맥을 절단하여 즉사시킨 뒤 개복하여 위를 적출하였다. 실온에서 100%  $O_2$ 와 평형을 이루고 있는 phosphate-완충 Tyrode 용액 (NaCl 147, KCl 4,  $MgCl_2 \cdot 6H_2O$  1.05,  $CaCl_2 \cdot 2H_2O$  2,  $NaH_2PO_4 \cdot 12H_2O$  1.81, glu-

cose 5.5 mM, pH 7.35)으로 채워진 준비용기 내에서 유문동(antrum)부위를 분리 절제하고 소만에 따라 절개하여 위점막층을 노출시켰다. 현미경 밑에서 윤상근(circular muscle)이 표면에 나오도록 점막층을 깨끗이 박리하였다.

조직 연구재료는 윤상근의 주행방향으로 길이 10 mm, 나비 2 mm (wet weight 5 mg 내외) 정도로 조직 절편(antral strip)을 만들고 1시간 정도 충분한 산소를 공급하면서 실온에서 회복시켰다.

자발적 수축(spontaneous contraction)에 관한 실험은 실온에서 회복시킨 위조직 절편의 양단을 근육 고정기에 묶고 수직형 실험용기(vertical chamber, 용량 100 ml)를 이용하여 35°C에서 완전히 이완시킨 상태로 1시간 이상 새 환경에서 회복시킨 뒤 실험을 시작하였다. 실험용액은 35°C에서 100%  $O_2$ 와 평형을 이루고 있는 tris-완충 Tyrode 용액 (NaCl 158, KCl 4,  $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ ,  $MgCl_2 \cdot 6H_2O$  1.05, tris-HCl 10, glucose 5.5 mM, pH 7.35)을 사용하였다.

수축곡선은 근육고정기와 장력변환기(tension transducer, Grass FT-03)를 연결시켜 등장성 수축(isometric contraction) 곡선을 기록기(Device physiograph)에 기록하였다(그림 1). 자발적 수축빈도

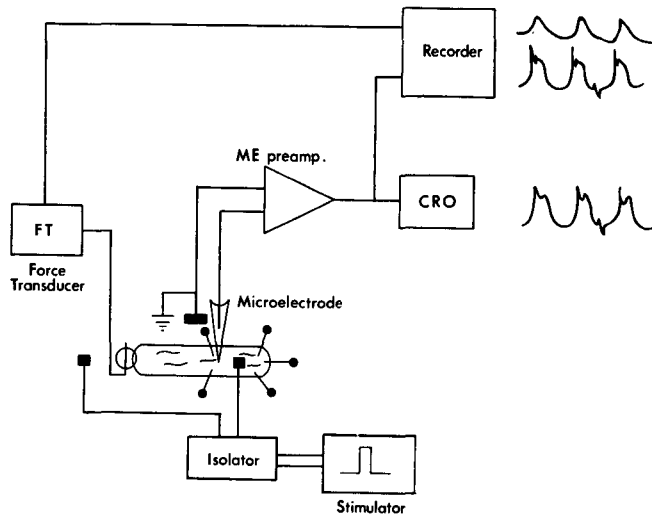


Fig. 1. A schematic representation of the isometric contraction and the electrical activity recording system. The isometric contraction was recorded through a tension transducer from the smooth muscle preparation. And the microelectrode puncture technique for intracellular recording of the electrical activities was employed in this experiment.

가 거의 일정하게 나타날 때, 근육길이를 단계적으로 늘여 길이-장력 곡선(length-tension curve)을 그려 최적길이(optimal length)를 정한 뒤, 이 길이에서 모든 실험조건을 가하였다.

윤상근의 전기활동을 기록하기 위하여 용량 2 ml 정도되는 수평형 실험용기(horizontal chamber)를 사용하였다. 용기내에 설치된 고무판위에 위조직 절편을 작은 핀으로 고정시킨 뒤 35°C에서 100% O<sub>2</sub>와 평형을 이루고 있는 tris-완충 Tyrode 용액을 2~3 ml/min 속도로 1시간 이상 관류시켜 새 환경에서 완전하게 회복되도록 하였다. 윤상평활근 세포의 전기활동 측정은 3 M-KCl로 채운 유리미세전극(glass microelectrode)을 점막쪽으로부터 세포내에 삽입하여 펜기록기에 기록하였고(그림 1), 전극은 전극 끝저항(tip resistance)이 40~80 MΩ 되는 것만을 골라서 사용하였다. 평활근 세포막의 막저항(membrane resistance)은 구간자극법(partition stimulating method)(Abe & Tomita, 1968)을 이용하여 그림 2에서와 같은 방법으로 구간의 전장자극의 크기와 전장 자극으로 기록된 전기긴장성 전압(electrotonic potential)을 측정하여 전류-전압 그래프상에서 직선의 기울기로서 막저항을 추정하였다.

전기긴장성 전압 기록전극의 위치는 자극전극에서

0.1~0.2 mm에 있도록 자극전극에 인접한 윤상근 세포에 미세전극을 삽입하였다.

본 연구는 각 실험마다 5~6회씩 반복하여 같은 경향이 나타남을 확인한 후 그중 대표적인 결과를 본 논문에 제시하였다.

실험에 사용된 약물은 다음과 같다.

Atropine sulfate (Sigma), Guanethidine sulfate (Tokyo Kasei), Tetrodotoxin (TTX) (Sankyo), Tetraethylammonium chloride (Merck), Verapamil (Isoptin, Knoll AG)

## 실 험 성 적

### 1. 위의 부위별 전기적 활동비교

유리 미세전극을 윤상근(circular muscle) 세포내에 꽂고 기록한 결과를 그림 3에 나타내었다. 왼쪽에 위의 모형도에 숫자로 표시된 부위에서 기록된 전기적 활동을 느린 속도(A)와 빠른 속도(B)로 그려 표시하였다. 위저(fundus) 부위는 전기적으로 조용하거나, 서파(slow wave)가 발생되더라도 크기가 매우 작았다. 위체 부위에서 십이지장 쪽으로 내려갈수록 안정막전압(resting membrane potential)이 증가하고 서파의 크기도 증가되어 유문동(antrum)이

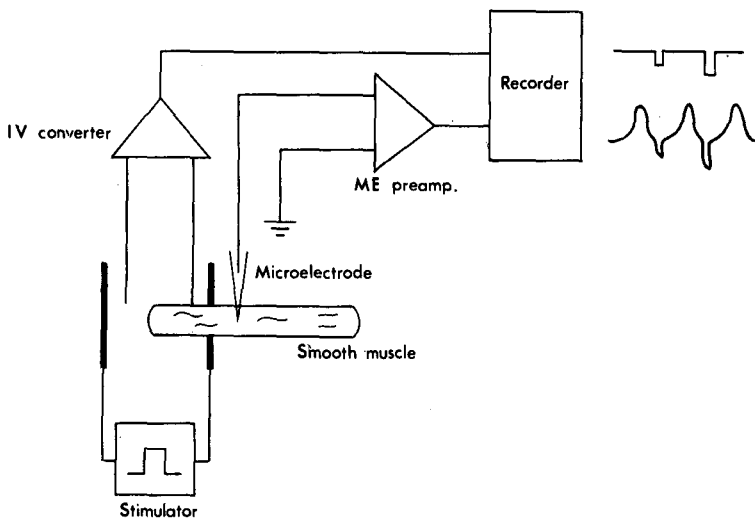


Fig. 2. A diagram of the partition stimulating method. The muscle chamber is divided by one of the stimulating electrodes into two compartments, stimulating (left) and recording (right). The electrotonic potentials were produced and recorded by the current stimulations.

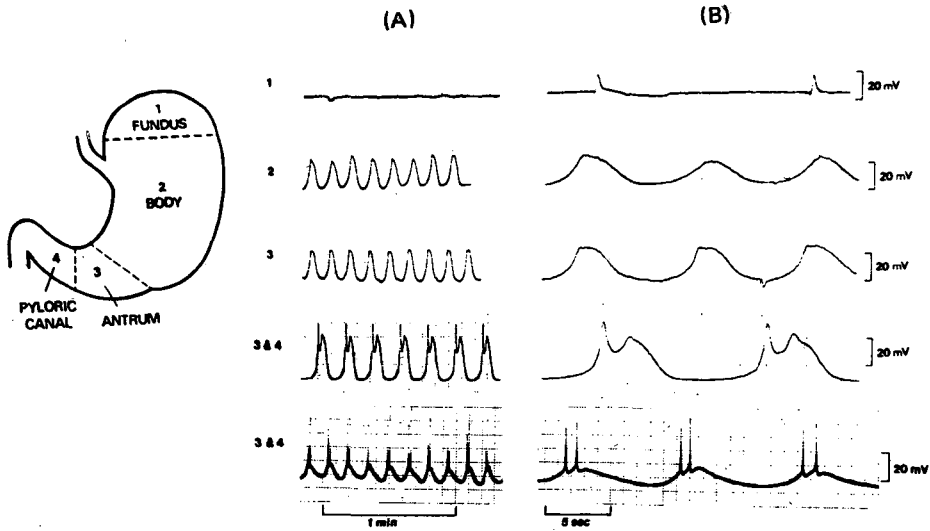


Fig. 3. Electrical activities recorded from the circular muscle cells in the regions shown in the schematic representation of guinea-pig stomach. (A) Slow waves recorded with slow paper speed. (B) Rapid paper speed. Note that the smooth muscle cells in the fundus region showed electrically quiescent responses, whereas those in the antrum region showed slow waves, slow waves with abortive spikes, and slow waves with spikes.

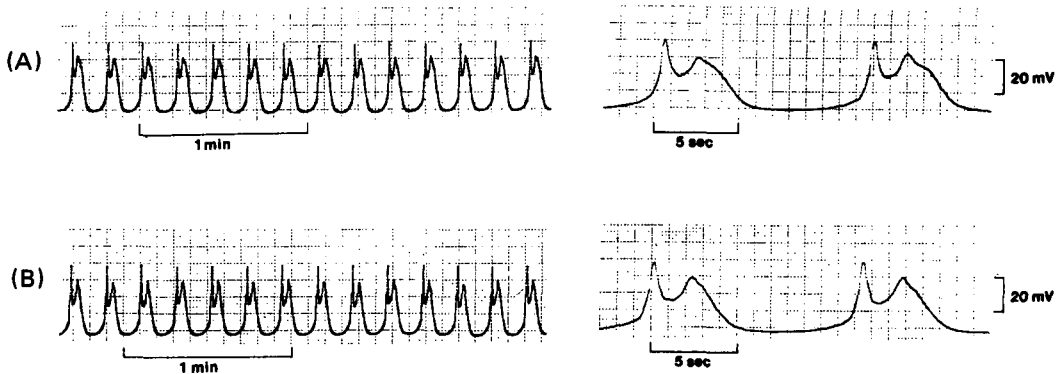


Fig. 4. Slow waves recorded from the antrum in the absence (A) or in the presence (B) of TTX, atropine, and guanethidine in guinea-pig stomach. The slow waves taken 20 min after the pretreatment with TTX ( $3 \times 10^{-7} M$ ), atropine ( $10^{-6} M$ ), and guanethidine ( $5 \times 10^{-6} M$ ) (B) showed almost the same features as those of control slow waves (A).

나 유문근처에서는 큰 서파나 가지전압(spike potential)이 기록되었다.

서파가 신경이 관여되어 나타나는 전기적 활동이 아니고, 근원성(myogenic origin)이라는 실험결과

를 그림 4에 나타내었다. (A)는 대조기록으로 TTX ( $3 \times 10^{-7} M$ ), atropine( $10^{-6} M$ ) 및 guanethidine ( $5 \times 10^{-6} M$ ) 첨가 전에 얻은 서파인데, 이들 3종류 약을 첨가한 뒤 20분만에 기록된 것을 (B)에 표시

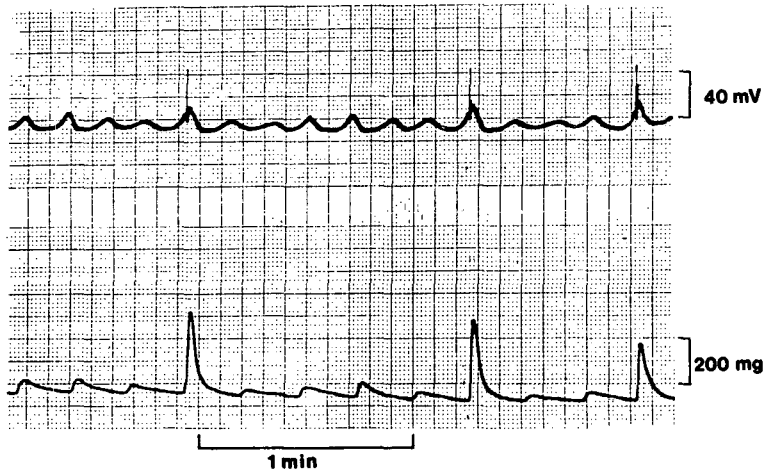


Fig. 5. Simultaneous records of electrical activities and spontaneous contractions in the presence of TEA (2 mM) from the antral strip of guinea-pig stomach. Note that spontaneous contractions were coupled with ordinary slow waves, while the slow waves with spike action potentials evoked large contractions. The amplitude of spontaneous contraction elicited by slow wave with spike action potential was increased by at least a factor of six.

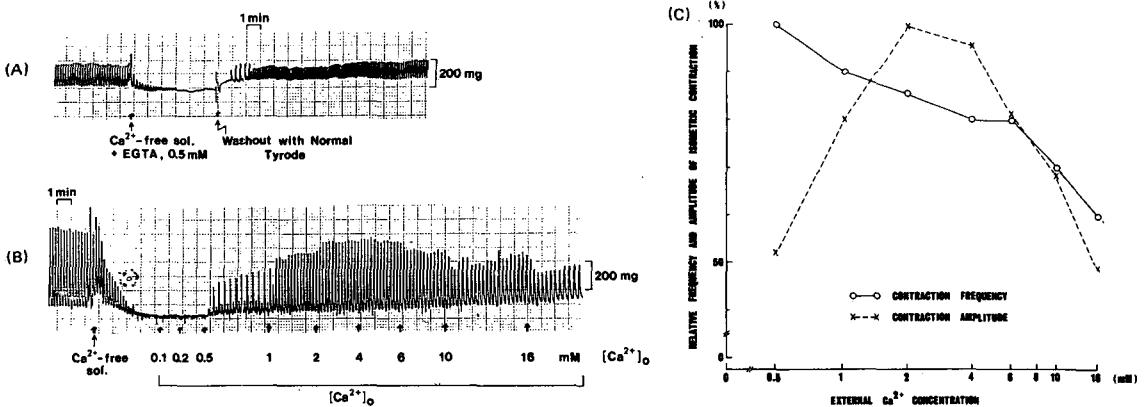


Fig. 6. Effects of extracellular  $\text{Ca}^{2+}$  on the spontaneous contractions recorded from antrum strip of guinea-pig stomach. (A) The spontaneous contractions disappeared completely in the  $\text{Ca}^{2+}$ -free Tyrode solution, and recovered after washout with normal Tyrode solution. (B) For the initiation of spontaneous contractions, 0.5 mM  $\text{Ca}^{2+}$  was needed, and the maximum amplitude of spontaneous contractions was developed approximately in the concentration of 2–4 mM  $\text{Ca}^{2+}$ . (C) Dose-response relationship for the effects of  $\text{Ca}^{2+}$ , and above or below this  $\text{Ca}^{2+}$  concentration the amplitude decreased dose-dependently, whereas the contraction frequency was inversely related with external  $\text{Ca}^{2+}$ .

하였는바, (A)와 (B)사이에 별반 변화와 차이가 보이지 않는 점으로 보아 서파는 평활근 자체에서 발생하는 근원성 현상임을 암시하고 있다.

## 2. 전기적 활동과 자발적 수축과의 관계

guinea-pig 유문동 절편을 이용하여 TEA (2 mM)

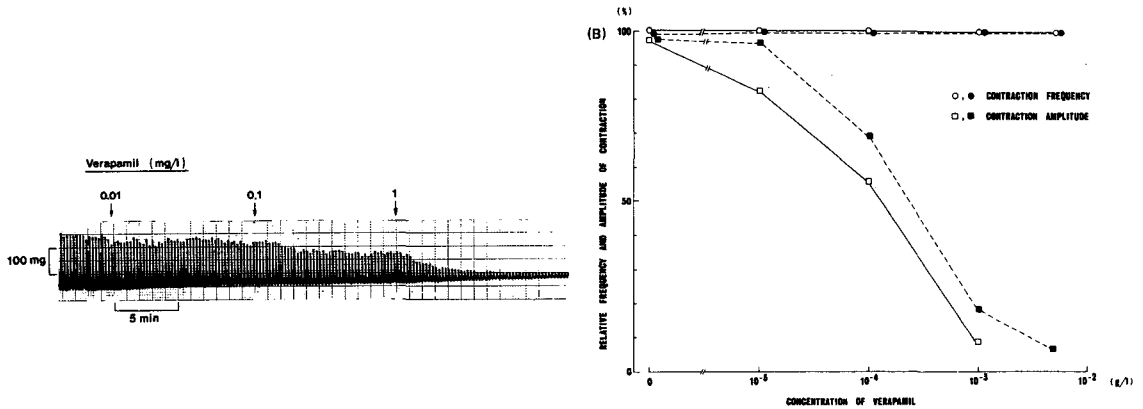


Fig. 7. Effects of verapamil on the spontaneous contractions recorded from the antrum strip of guinea-pig stomach. (A) Verapamil suppressed the antral spontaneous contractions in a dose-dependent manner. The inhibitory effect appeared about at the concentration of 0.1 mg/l and increased in parallel with the increase in verapamil concentration. (B) Dose-dependency of the verapamil effects on spontaneous contractions in the control absence ( $\circ$ ,  $\square$ ) and in the presence of TTX ( $3 \times 10^{-7}$  M), guanethidine ( $5 \times 10^{-6}$  M), and atropine ( $10^{-6}$  M) ( $\bullet$ ,  $\blacksquare$ ). Note that the amplitude of spontaneous contractions decreased dose-dependently by verapamil, while the frequency was almost not changed over the whole concentrations of verapamil.

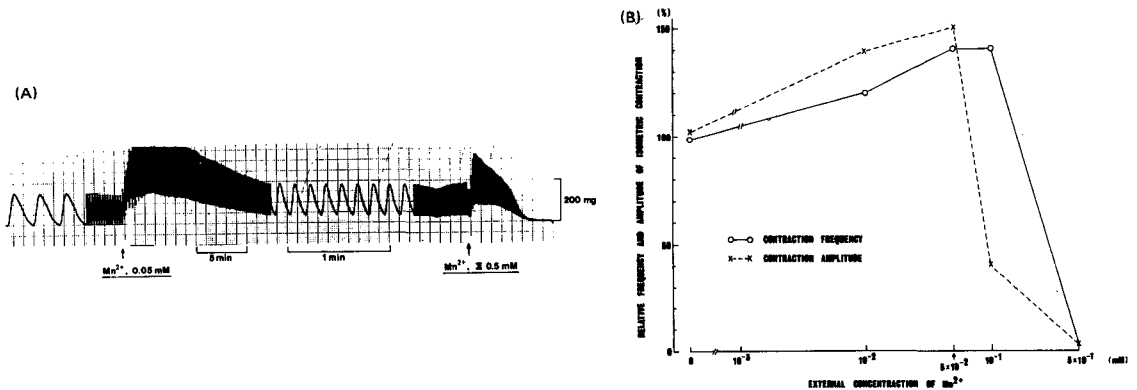
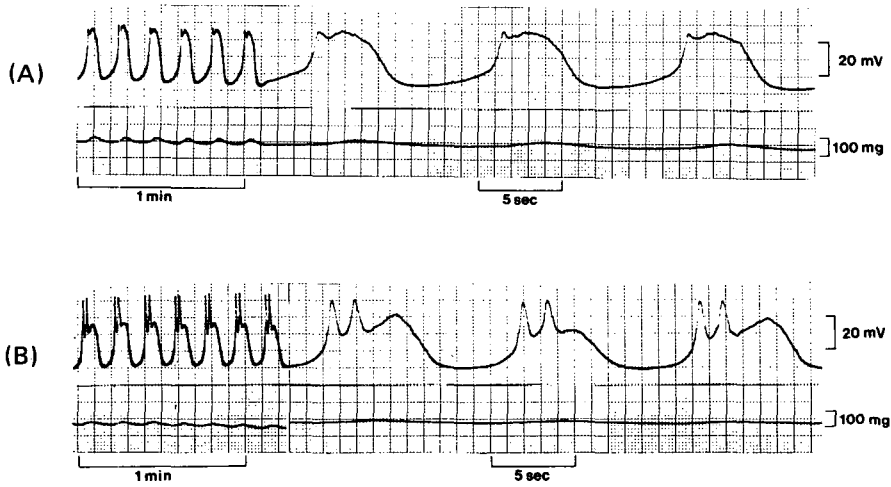


Fig. 8. Effects of  $Mn^{2+}$  on the spontaneous contractions recorded from the antrum strip of guinea-pig stomach. Guanethidine ( $5 \times 10^{-6}$  M), atropine ( $10^{-6}$  M), and TTX ( $3 \times 10^{-7}$  M) were present throughout. (A) The spontaneous contractions were potentiated and facilitated immediately after the application of  $Mn^{2+}$  (0.05 mM) and then decreased to the new steady-state level. However, in the concentration of 0.5 mM  $Mn^{2+}$  the initial increases in amplitude and frequency were rapidly decreased and finally the spontaneous contractions disappeared. (B) Dose-dependency for the  $Mn^{2+}$ , while above 0.1 mM  $Mn^{2+}$  both parameters of spontaneous contractions were decreased.

존재시 전기적 활동과 자발적 수축을 동시에 기록하여 이들의 상호 연관성을 보여주고 있는 것이 그림 5이다. 이 그림을 보면 일반적인 서파만으로도 크기

는 작지만 자발적 수축이 유발됨을 알 수 있고, 가시 활동 전압이 나타나면 수축의 크기가 대조시 크기에 비하여 최소한 6배나 큰 자발적 수축이 발생됨



**Fig. 9.** Effects of external  $\text{Ca}^{2+}$  on the slow waves recorded from the antrum of guinea-pig stomach. Resting membrane potential was  $-70\text{mV}$  at  $2\text{ mM Ca}^{2+}$ . (A) Control recordings of slow waves at  $2\text{ mM Ca}^{2+}$ . (B) The slow wave tracings recorded at  $8\text{ mM Ca}^{2+}$ . The amplitude and the maximum rate of rise of slow waves were increased in high  $\text{Ca}^{2+}$  solution : The amplitude and the rate of rise were enhanced from  $33\text{ mV}$  and  $40\text{ mV/sec}$  at control  $2\text{ mM Ca}^{2+}$  to  $41\text{ mV}$  and  $175\text{ mV/sec}$  at  $8\text{ mM Ca}^{2+}$ , respectively. Note that high  $\text{Ca}^{2+}$  ( $8\text{ mM Ca}^{2+}$ ) induced a generation of abortive spike potentials in a circular muscle cell which had shown only slow waves.

을 보여주고 있다. 자발적 수축과 서파를 동시에 기록한 것은 그림 9와 그림 10에도 나타나 보였는 바, 확실히 서파만으로도 자발적 수축이 유발됨을 볼 수 있다.

### 3. 자발적 수축에 대한 $\text{Ca}^{2+}$ 및 $\text{Ca}^{2+}$ -길항제 효과

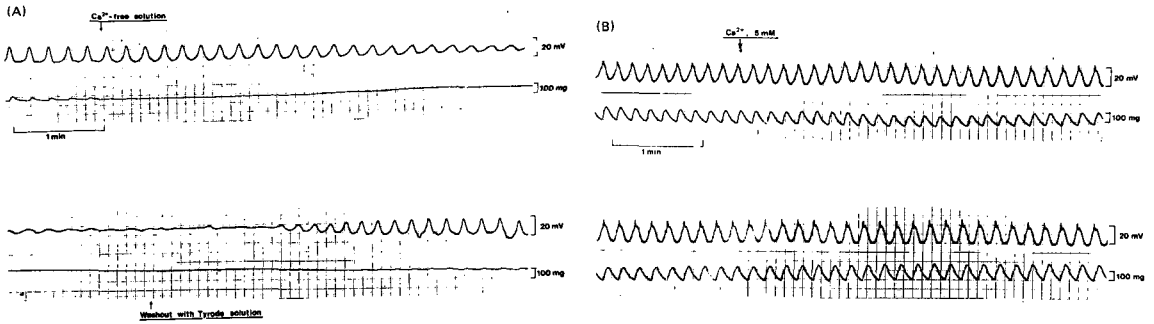
자발적 수축의 기록에 사용된 부위는 유문동으로서, 윤상근주행방향으로 절편을 만들어 규칙적인 자발적 수축을 기록하면서 이에 대한 세포의  $\text{Ca}^{2+}$ 과  $\text{Ca}^{2+}$ -길항제 (verapamil과  $\text{Mn}^{2+}$ )의 효과를 그림 6, 그림 7 및 그림 8에 나타내었다. 자발적 수축은 세포의  $\text{Ca}^{2+}$ 을 제거시킨  $\text{Ca}^{2+}$ -free Tyrode 용액에서는 완전히 없어졌으나, 정상용액 ( $2\text{ mM Ca}^{2+}$ )으로 바꿔주면 회복되었다(그림 6A). 자발적 수축이 나타나려면 세포의  $\text{Ca}^{2+}$ 이  $0.5\text{ mM}$  이상이어야 되고 수축의 크기는  $2\text{--}4\text{ mM Ca}^{2+}$  근처에서 최대값을 보여주었다(그림 6B). 그림 6C에는 세포의  $\text{Ca}^{2+}$ 과 자발적 수축의 빈도와 크기 사이의 용량-반응 관계가 그려져 있다. 이 도표에서 자발적 수축의 크기는 세포의

$\text{Ca}^{2+}$ 이  $2\text{--}4\text{ mM Ca}^{2+}$ 에서 최고에 달하였고, 이 농도보다 낮거나 높을 경우 감소되었는데 반하여, 수축빈도는  $0.5\text{ mM Ca}^{2+}$ 에서  $16\text{ mM}$ 로 높일 경우 오히려 감소되어 역관계를 보였다.

자발적 수축을 하는 유문동 절편에 대한 verapamil의 효과를 그림 7에 보였다. (A)를 보면 verapamil은 농도를 증가시키에 따라 자발적 수축의 크기를 감소시켰는데, 수축 크기가 감소되기 시작하는 농도는  $0.1\text{ mg/l}$  정도이었다. 그림 7B에 수축크기와 빈도에 미치는 verapamil의 효과를 비교 표시하였다. 즉 수축 빈도는 영향을 받지 않았고 수축의 크기만이 영향을 받아 농도증가에 따라 수축 크기가 더욱더 감소되었으며 이와 같은 verapamil 효과는 신경 차단제들 존재시에도 거의 비슷한 결과를 나타내었다.

칼슘 길항제 중 무기물에 속하는  $\text{Mn}^{2+}$ 의 자발적 수축에 대한 특징적인 결과를 그림 8에 보였다.  $0.05\text{ mM Mn}^{2+}$  이하의 낮은 농도에서는 수축의 크기와 빈도가  $\text{Mn}^{2+}$  농도증가에 따라 커졌으나  $0.1\text{ mM}$  이상의 농도에서는 모두 감소되고  $0.5\text{ mM}$  이상에서는 자발적 수축이 사라졌다(그림 8B).  $\text{Mn}^{2+}$  효과





**Fig. 10.** Comparison of  $Ca^{2+}$ -free effects with high  $Ca^{2+}$  effects on the slow waves and spontaneous contractions recorded from the antrum of guinea-pig stomach. (A) The simultaneous recordings of both slow waves and spontaneous contractions taken from  $Ca^{2+}$ -free Tyrode solution. (B) The simultaneous recordings of slow waves and spontaneous contractions taken at 5 mM  $Ca^{2+}$ .

In  $Ca^{2+}$ -free solution, resting membrane potential was decreased gradually and depolarized by about 10 mV, and both the amplitude and the rate of rise of slow waves were also decreased gradually and finally the firing of slow waves was ceased. The spontaneous regular contractions recorded simultaneously with the slow waves were ceased and then obvious tonic contracture was developed as the membrane was depolarized. The slow waves and spontaneous contractions were recovered from the suppressed status in  $Ca^{2+}$ -free solution by washout with normal Tyrode solution. In a high  $Ca^{2+}$  solution (5 mM  $Ca^{2+}$ ), the amplitude and rate of rise of slow waves were enhanced and also the abortive spikes on slow waves appeared. The amplitude of spontaneous contractions was increased in parallel with the changes in slow waves at 5 mM  $Ca^{2+}$ . Resting membrane potential, which was  $-60$  mV at 2 mM  $Ca^{2+}$ , was not changed.

의 시간경과에 따른 특징적인 양상으로서, 낮은 농도에서는 투여하자마자 수축의 크기와 빈도가 모두 크게 증가되고 이어서 서서히 감소되어 새로운 항정 상태에서 대조시에 비하여 모두 증가된 상태가 유지되었으나, 높은 농도에서는 자발적 수축이 완전히 차단되었다.

#### 4. 서파에 대한 $Ca^{2+}$ 및 $Ca^{2+}$ -길항제 효과

유문동 부위의 윤상근 평활근 세포에서 기록되는 서파에 대한 세포의  $Ca^{2+}$  효과를 그림 9에 나타내었다. (A)가 대조시 (2 mM  $Ca^{2+}$ )의 기록이고 (B)는 8 mM  $Ca^{2+}$ 에서 서파에 나타난 변화 모습이다. 세포의  $Ca^{2+}$  농도를 높임으로서 서파에 나타난 대조시에 보이지 않던 불완전한 작은 가시전압 (abortive spike potential)이 생긴 것이다. 이 기록에서 서파 높이와 최대탈분극 속도변화를 보면 높이는 대조시의 33 mV에서 8 mM  $Ca^{2+}$ 에서는 41 mV로 증가되었고, 최대탈분극 속도 (maximum rate of rise)

는 40 mV/sec에서 175 mV/sec로 크게 빨라졌다.

서파와 자발적 수축을 동시에 기록하면서  $Ca^{2+}$ -free 용액과 고농도  $Ca^{2+}$  용액 (5 mM  $Ca^{2+}$ )에서 나타난 기록 결과를 비교 관찰할 수 있도록 그림 10에 나타내었다.

(A)에 나타낸  $Ca^{2+}$ -free Tyrode 용액에서의 기록을 보면, 서파는 크기와 탈분극 속도가 서서히 감소되고, 막전압도 감소되면서 (탈분극) 자발적 수축은 사라지고 긴장성의 경축 ( $Ca^{2+}$ -free contracture) 반응이 나타났다. 다시 2 mM  $Ca^{2+}$ 을 보유한 정상 Tyrode 용액으로 바꿔 관류시키면 서서히 서파가 회복되어 나타나면서 경축이 풀리고 자발적 수축이 다시 재생되었다.

고농도인 5 mM  $Ca^{2+}$ 을 포함하고 있는 Tyrode 용액으로 관류시 나타난 서파와 자발적 수축상의 변화 모습이 (B)에 표시되어 있다. 서파의 높이와 탈분극 속도가 증가되었고 작은 가시전압이 발생되었다. 이와같은 서파의 변화와 더불어 자발적 수축의 크기

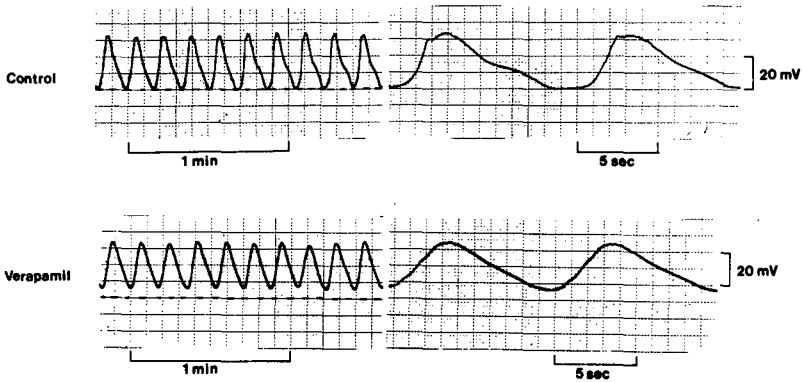


Fig. 11. Effects of verapamil on the slow waves recorded from the antrum of guinea-pig stomach. Verapamil (1 mg/l) reduced the amplitude and maximum rate of rise of slow waves : The amplitude of slow waves was reduced from 34 mV at control state to 29 mV, and the rate of rise from 34 mV/sec to 11 mV/sec, respectively. Resting membrane potential, which was  $-65$  mV at control state, was depolarized by 6 mV after application of verapamil for 15 min. The frequency of slow waves was not affected by verapamil.

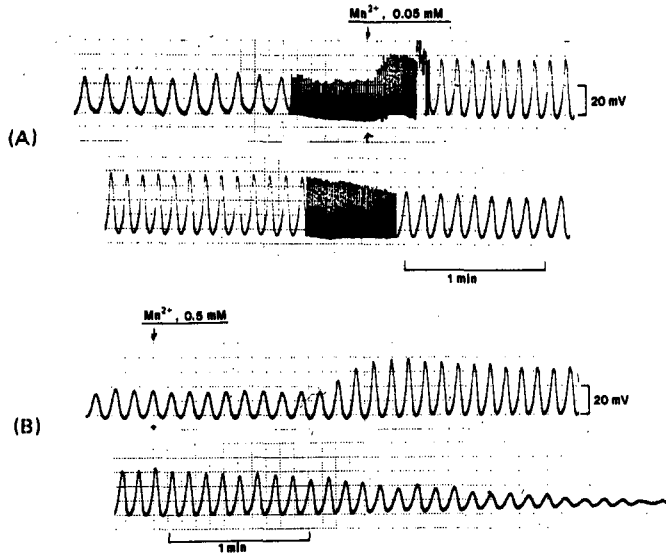
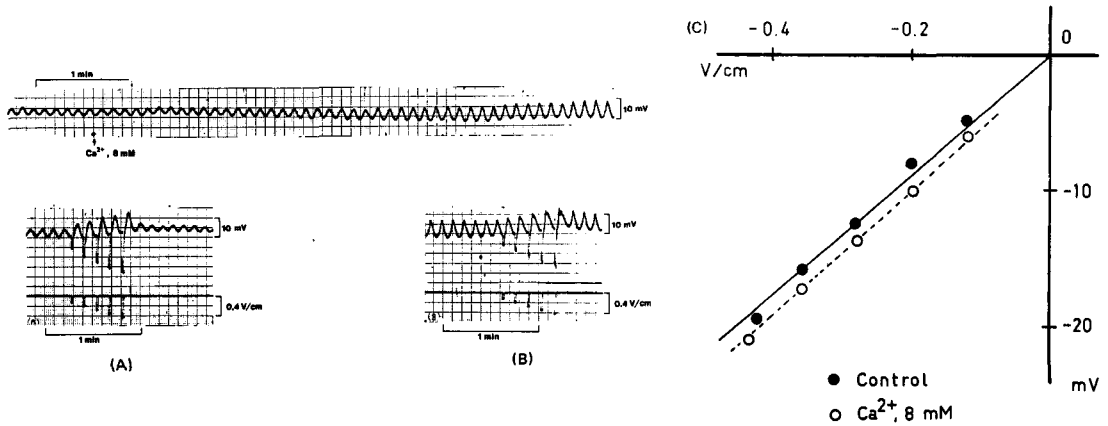


Fig. 12. Different effects between low and high  $Mn^{2+}$  on the slow waves recorded from the antrum of guinea-pig stomach. (A) The characteristic changes of the slow waves in low concentration of  $Mn^{2+}$  (0.05 mM). The amplitude, rate of rise and frequency of slow waves were largely increased immediately after the exposure to low  $Mn^{2+}$  and then decreased gradually to a new level of steady-state and maintained the facilitated state. Resting membrane potential was hyperpolarized by about 5 mV. (B) The slow waves recordings taken in high  $Mn^{2+}$  (0.5 mM). The initial rapid increases in three parameters of slow waves and then subsequent gradual decreases were similar to those seen in low  $Mn^{2+}$ . However, the slow waves were not maintained at a certain level of new steady-state, and finally disappeared.



**Fig. 13.** Electrotonic potentials produced by 5 different intensities of inward current pulse (1 sec in duration) recorded from a circular smooth muscle cell of the guinea-pig gastric antrum. (A) Control recordings at 2 mM  $Ca^{2+}$ . (B) Recordings taken after application of 8 mM  $Ca^{2+}$  for 10 min. (C) Current-voltage relationship. The amplitude of the electrotonic potential was plotted against the intensity of the current shown by V/cm. Vertical axis: Membrane potential change measured from the resting membrane potential. Negative value indicates hyperpolarization. All the responses were recorded from the same cell with intracellular microelectrode which was located 0.1–0.2 mm apart from the stimulating electrode. Note that the current-voltage relationship showed a similar slope to that of the control.

가 대조시보다 증가되었다.

그림 11에 서파에 미치는 verapamil의 효과를 나타내었다. 1 mg/l verapamil 첨가 후 15분 경과시 기록된 결과를 대조시와 비교하여 보면, 서파의 발생 빈도는 변하지 않았으나 서파의 높이와 최대탈분극 속도가 감소되었다. 즉 서파높이는 대조시 34 mV에서 29 mV로 작아졌고, 탈분극 속도도 34 mV/sec에서 11 mV/sec로 느려졌다. 대조시 -65 mV이던 안정막전압이 감소되어 6 mV정도 탈분극되었다.

낮은 농도(0.05 mM)와 높은 농도(0.5 mM)의  $Mn^{2+}$ 이 서파에 미치는 서로 다른 특징적인 효과를 그림 12에 표시하였다. 0.05 mM  $Mn^{2+}$ 에 노출되자마자 서파의 높이, 빈도 및 탈분극 속도가 크게 증가되었다가 서서히 모두 감소되면서 항정상태에 도달되면서 대조시에 비하여 촉진된 상태로 유지되었다(A). 그러나 0.5 mM  $Mn^{2+}$ 에 노출시킨 (B)를 보면 초기의 현상은 낮은 농도의  $Mn^{2+}$  투여시와 유사하나 서파가 계속 감소되면서 드디어는 소실되었다.

안정막전압의 변화를 비교하면 낮은 농도인 0.05 mM  $Mn^{2+}$ 에서는 5 mV정도 과분극(hyperpolarization) 되었으나, 고농도인 0.5 mM  $Mn^{2+}$ 에서는 오히

려 10 mV 정도 탈분극(depolarization) 되면서 서파가 없어졌다.

### 5. $Ca^{2+}$ 및 $Ca^{2+}$ -길항제가 막저항에 미치는 영향

구간자극법(partition stimulating method, Abe & Tomita, 1968)으로(그림 2) 자극전극으로부터 0.15 mm 정도 떨어진 부위의 윤상근 세포 내에 꽂은 미세전극에서 기록되는 전기긴장성 전압(electrotonic potential)의 크기를 측정하여 전류-전압 관계를 그래프로 그리면, 직선의 기울기가 바로 막저항을 나타내므로 이 방법을 이용하여 우선  $Ca^{2+}$  농도를 변화시킨 경우를 그림 13에 표시하였다. 2 mM  $Ca^{2+}$  과 8 mM  $Ca^{2+}$ 에서 각각 얻은 직선의 기울기가 거의 차이가 없는 점으로 보아, 세포의  $Ca^{2+}$  농도를 2에서 8 mM로 높이더라도 막저항은 변하지 않았고 판단된다. 같은 방법으로 1 mg/l verapamil에 15 분간 노출 후에 얻은 결과를 대조시와 비교한 결과가 그림 14에 나타나 있다. 대조시에 비하여 기울기가 급해진 것으로 보아 verapamil이 막저항을 증가시키는 효과를 일으켰음을 알 수 있었고, 여기에 0.

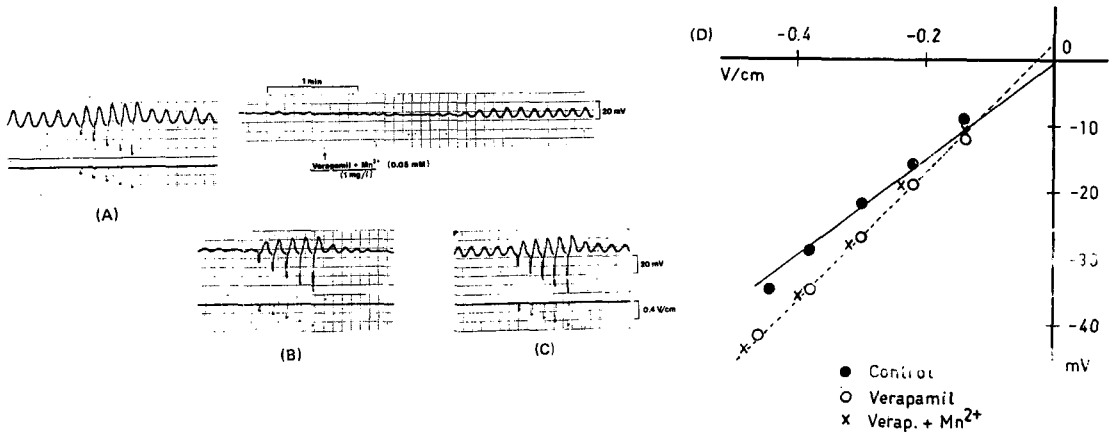


Fig. 14. Electrotonic potentials recorded before and after application of verapamil to a smooth muscle cell of the guinea-pig gastric antrum. (A) Control recordings before application of verapamil (1 mg/l). (B) Recordings taken after application of verapamil for 15 min. (C) Recordings taken after application of verapamil + Mn<sup>2+</sup> (0.05mM) for 10 min. (D) Current-voltage relationship. The current-voltage relationship revealed a slope which was steeper after the membrane was depolarized by verapamil, and the steepness of the slope resulted from application of verapamil was not changed by additive application of low Mn<sup>2+</sup>.

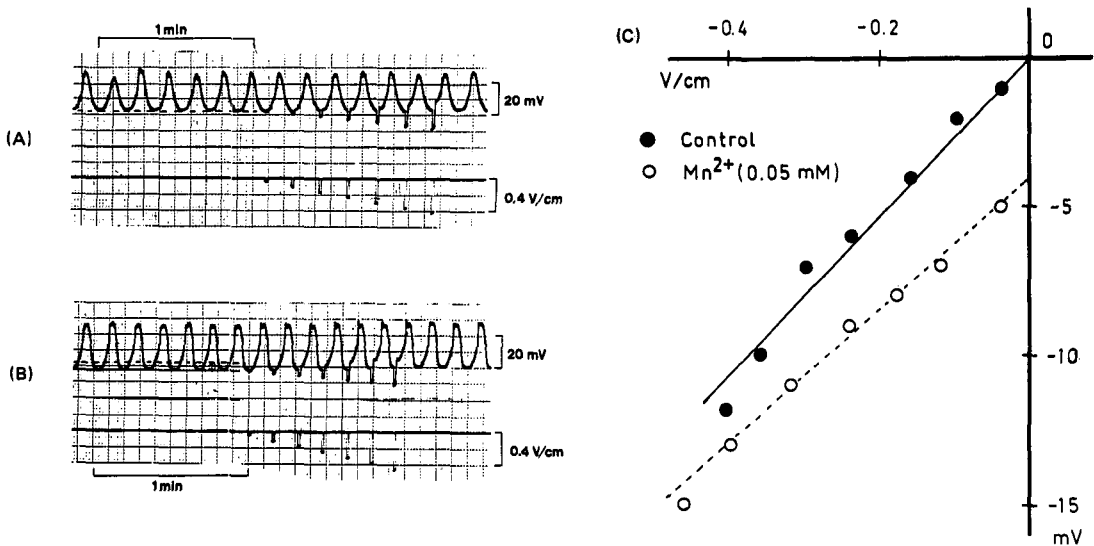
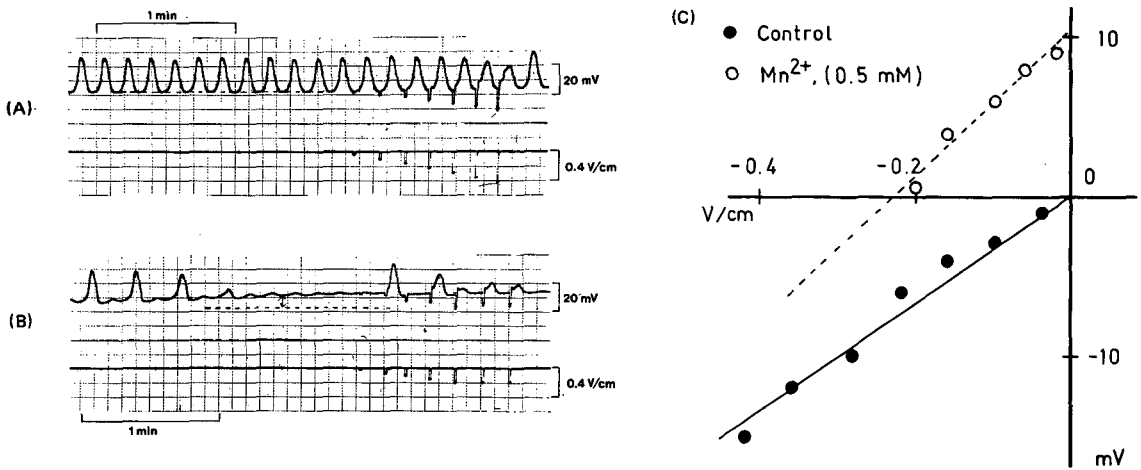


Fig. 15. Electrotonic potentials recorded in low concentration of Mn<sup>2+</sup> (0.05 mM) from a smooth muscle cell of guinea-pig gastric antrum. (A) Control recordings before application of Mn<sup>2+</sup>. (B) Recordings taken after application of Mn<sup>2+</sup> for 10 min. (C) Current-voltage relationship. Resting membrane potential was -60 mV in control experiment, and 0.05 mM Mn<sup>2+</sup> hyperpolarized the membrane by about 5 mV. Steepness of a slope during an application of Mn<sup>2+</sup> was slightly decreased.

0.05 mM Mn<sup>2+</sup>을 추가하여도 기울기에는 영향을 미치지 못하였다. 그림 15와 그림 16에 낮은 농도(0.05

mM Mn<sup>2+</sup>)와 높은 농도(0.5 mM Mn<sup>2+</sup>)의 Mn<sup>2+</sup>이 막전압에 미치는 효과를 각각 나타내었는 바, 0.05



**Fig. 16.** Electrotonic potentials recorded in high concentration of  $\text{Mn}^{2+}$  (0.5 mM) from a smooth muscle cell of guinea-pig gastric antrum. (A) Control recordings. (B) Recordings taken after an application of  $\text{Mn}^{2+}$  for 10 min, (C) Current-voltage relationship. Resting membrane potential was  $-60$  mV in control recordings, and  $0.5$  mM  $\text{Mn}^{2+}$  depolarized the membrane by about  $10$  mV. Current-voltage relationship showed a slope which became steeper after the membrane was depolarized by  $\text{Mn}^{2+}$ .

mM  $\text{Mn}^{2+}$  (그림 15)에서는 막저항이 약간 감소되었으나,  $0.5$  mM  $\text{Mn}^{2+}$  (그림 16)에서는 오히려 증가되었음을 보여주었다.

## 고 찰

많은 종류의 평활근 조직에서 나타나는 자동능 (automatism)은 평활근 세포자체의 자발적 활동에 의한 것이고, 이것은 세포막의 주기적인 완만 탈분극 (slow depolarization) 현상으로 발생된다는 사실이 알려져 있다. 자동능을 가능케하는 이와같은 완만 탈분극 현상이 평활근 세포자체에서 유래된다는 즉 근원성 (myogenic)이라는 사실은 신경흥분전달차단제인 tetrodotoxin (TTX)이나, atropine, guanethidine 존재시에도 자발적 수축이 유지된다는 사실로부터도 추측할 수 있다 (Papasova et al., 1968; Liu et al., 1969; Golenhen et al., 1970; El-Sharkawy et al., 1978; Komori & Suzuki, 1986). guinea-pig stomach의 유문동 절편에서 서파와 자발적 수축을 기록한 본 실험에서도 TTX ( $3 \times 10^{-7}$  M), atropine ( $10^{-6}$  M) 및 guanethidine ( $5 \times 10^{-6}$  M)을 동시에 첨가하더라도 서파나 자발적 수축에는 전혀 변화가 없는 점으로 보

아 근원성임을 짐작할 수 있었다 (그림 4, 그림 7). 완만 탈분극현상 즉 pacemaker potentials는 편위상 세가지 유형으로 구분된다 (Kuriyama, 1970). Type I은 자발적 가시전압 개개의 prepotential을 말하고, Type II는 신경에 의하여 생겨나는 흥분성 시냅스 후 전압 (excitatory postsynaptic potential, EPSP)이며, Type III는 가시전압의 무리 (a train of spike discharge)를 생기게 하는 완만 탈분극으로서 이중 매우 규칙적으로 나타나는 것을 서파 (徐波, slow wave) 혹은 minute rhythm이라고 부른다.

Guinea-pig의 결장뉴 (taenia coli)와 유문동 윤상근 세포 (antral circular muscle cell)에서 기록되는 전기적 활동을 비교하면, 결장뉴에서는 1~3분을 주기로 막전압이 완만하게 동요되는 일정한 주기의 서파가 나타나는데 이 서파가 가시전압의 발생을 조정하여 서파의 정점에서 가시전압 발생빈도가 최고가 되어 대개 1 spike/sec 정도되며 결장뉴가 신전되면 늘어난 정도에 따라 가시전압 무리간의 간격 (interval between the bursts of spike discharge)이 감소되어 자발적 수축빈도는 증가된다 (Mashima & Yoshida, 1965; Mashima et al., 1966; Hukuhara & Fukuda, 1968; Golenhofen & Loh, 1970). 유문동 부위의 윤

상근 세포에서 기록되는 서파는 크기가 15~30 mV (평균 20 mV 정도)이고, 폭(기간)은 2~10 sec로서 빈도는 35°C에서 6/min 정도로서 (Tomita, 1981; Komori & Suzuki, 1986) 본 실험의 결과(그림 3, 그림 4, 그림 9 및 그림 11)도 대동소이하며, 최대탈분극속도( $\frac{dV}{dt}$ ) max를 살펴보면 고양이 위에서는 8 mV/sec (Papasova et al., 1968), 개의 위에서는 0.5-2 V/sec, 사람 위에서는 0.1~0.6 V/sec (El-Sharkawy et al., 1978)이었다. 그림 9 및 그림 11에서 보여주고 있는 본 실험의 최대탈분극 속도는 20~40 mV/sec내에 있었다.

일반적으로 guinea-pig 결장뉴의 경우 서파의 정점 근처에서 수많은 가시전압이 유발되면서 기계적인 위상성의 자발적 수축이 일어나는데, 수축크기는 가시전압의 수와 밀접한 관계가 있다. 그러나 때로는 가시전압이 없는 서파만으로도 약하지만 수축을 일으킬 수 있다(Tomita, 1981). 본 실험결과 중 서파와 자발적 수축을 동시에 기록한 것(그림 5, 그림 9 및 그림 10)을 보면 서파와 자발적 수축은 잘 연관되어 있음을 볼 수 있으며, 특히 그림 5에서 1 mM TEA 첨가로 가시전압을 유발시키면 서파로 생기던 수축보다 6배 이상 큰 자발적 수축이 발생됨을 볼 수 있었다. 일반적으로 소화관에서 눈에 띄는 수축은 가시전압이 발생될 때 생긴다고 하지만 서파만으로도 크기는 작지만 수축이 유발된다는 보고는 많다. 즉 개의 회장(Sander, 1983), 개의 위 유문동 중주근 및 운상근(Szurszewski, 1975; El-Sharkawy et al., 1978; El-Sharkawy & Szurszewski, 1978)에서 기록보고하고 있다. 특히 Mangel et al. (1982)은 고양이 소장 중주근에서 chloroteracycline fluorescence를 이용하여 서파와 관련되어 세포내  $Ca^{2+}$  농도가 규칙적으로 동요되는 사실을 관찰 보고하였다.

소위 서파유발수축(slow wave-contraction)은, 흔히 말하는 흥분수축 연결(excitation-contraction coupling)의 개념에 해당하는 활동전압유발수축(action potential-contraction)에 상대되는 개념으로서 그 생리학적인 의미는 아직 완전하게 이해할 수 없으나, 서파 유발수축이 존재한다는 사실은  $Ca^{2+}$ -활동전압에 관련되지 않는  $Ca^{2+}$ -channels이나  $Ca^{2+}$  유리기전( $Ca^{2+}$ -release mechanisms)이 있을 것이라는

추측을 가능케 한다.

서파를 자세하게 분석하면 3가지 성분을 가지고 있는 것으로 알려져 있다(Ohba et al., 1975, 1977). 즉 guinea-pig 운상근에서 기록된 서파는 밑부분의 제1 성분(first component), 서파 윗부분을 구성하는 제2 성분(second component)과 제2 성분 꼭대기에서 발생하는 가시전압 성분(spike component)으로 구성되어 있다. 제1 성분은 전압 비의존성 과정(potential-independent process)에 의하여 생기고, 서파의 빈도를 좌우하고 있다. 전압 비의존성 과정이란 아마도 전압형성 Na-Ca 교환기전(electrogenic Na-Ca exchange mechanism)에 의한 것으로 추측되고 있다. 이에 대하여 제2 성분은 제1 성분에 의하여 유발되는 전압 의존성 성분으로서 제1 성분의 탈분극으로 시동이 걸리는  $Ca^{2+}$ -channel이 활성화되어, 즉  $Ca^{2+}$  전도도가 증가되어 생기는 것으로 추측되며 이  $Ca^{2+}$ -channel은 spike component를 유발시키는  $Ca^{2+}$ -channel에 비하여 각종  $Ca^{2+}$ -길항제에 덜 영향을 받는 것으로 보인다(Tomita, 1981).

verapamil이 서파유발수축의 크기를 감소시키는 기전을 서파에 대한 효과에서 관찰 분석하면(그림 11), 1 mg/l verapamil 투여시 서파에 나타난 세 가지 중요 변화는 막전압이 6 mV 정도 탈분극 되고, 서파높이와 최대탈분극 속도가 감소된 점이며, 이에 반하여 서파의 빈도는 변화되지 않았다. 이와 같은 현상은 verapamil이 서파의 제1 성분에는 영향을 못미쳤고, 제2 성분에 효과를 내어 서파높이와 탈분극 속도가 감소됨으로서 아마도 제2 성분에 관계되는  $Ca^{2+}$ -channel을 통한  $Ca^{2+}$  유입이 감소되어 자발적 수축이 감소된 것으로 해석된다. verapamil이 막전압을 탈분극시키고 동시에 막저항이 증가된 사실(그림 14)은 세포내  $Ca^{2+}$  공급감소로 인한 2차적인 결과로서 칼륨 투과도가 억제되어(Ca-dependent potassium channels의 억제) 막전압이 탈분극된 것으로 해석된다. 이와 유사한 실험결과로서는 diltiazem에 의하여도 막전압이 탈분극되면서 자발적 수축이 감소된다는 보고가 있다(Ishikawa et al., 1985).

무기물인  $Mn^{2+}$ 은 흔히 유기제제인 verapamil과 마찬가지로  $Ca^{2+}$ -channel blockers 즉 가시전압을 유발시키는  $Ca^{2+}$ -통로의 선택적 차단제로서 사용하나 그 작용기전이 완전히 같지 않음이 여러 실험결과들에

서 보고되고 있다. Kim & Kim(1985)이 guinea-pig 결장뉴에 대한  $Mn^{2+}$ 과 Verapamil 효과 분석에 의하면 1 mg/l 이상의 verapamil, 1 mM 이상의  $Mn^{2+}$ 은  $Ca^{2+}$ -길항제로서 비슷한 효과를 나타내었지만, 그 이하의 낮은 농도에서는 verapamil은 농도증가에 따라 자발적 수축빈도(즉 서파빈도)를 떨어뜨렸으나,  $Mn^{2+}$ 은 오히려 빈도가 증가된 점이다. 이에 대하여 verapamil은  $Ca^{2+}$ 에 좌우되는 서파발생과정에 작용할 것이라는 해석이 가능하나,  $Mn^{2+}$ 은  $Ca^{2+}$ -길항제 작용뿐만이 아니라 이온통로를 통한 charge carrier 로서도 작용하여 오히려 서파 발생과정을 촉진시켰을 가능성을 제시하고 있다(Osa, 1973; Ochi, 1976).

본 실험결과를 보면(그림 8, 그림 12, 그림 15 및 그림 16), 낮은 농도인 0.05 mM  $Mn^{2+}$  이하에서는 자발적 수축빈도와 크기가 대조시에 비하여 모두 증가되었으나, 0.5 mM  $Mn^{2+}$  이상에서는 모두 감소되면서 자발적 수축이 소실되었다.

서파에 대한  $Mn^{2+}$  효과와 막전압에 미치는 영향을 바탕으로 해석하면, 서파의 시간경과에 따른 변화가 특이하였는데(그림 12), 초기에는 서파의 높이와 빈도가 매우 증가되었다가 서서히 감소되어, 낮은 농도에서는 일정한 항정상태에서 유지되었으나, 높은 농도에서는 감소되다가 서파가 사라지면서 탈분극되었고, 이때 막전압변화를 보면 낮은 농도에서는 약간 증가되었으나 높은 농도에서는 감소되었다(그림 15, 그림 16), 초기의 빈도와 높이가 증가되었던 것은 아마도  $Mn^{2+}$ 이 서파의 제1성분과 제2성분을 일으키는 기전 즉 Na-Ca 교환기전과  $Ca^{2+}$  channel을 통한  $Ca^{2+}$  유입을 촉진시켜 서파의 빈도와 높이가 증가되면서 자발적 수축의 빈도와 크기도 따라서 초기에는 증가된 것으로 해석된다. 이어서 서서히 빈도와 크기가 감소되는 것은 이온이동의 농도경사가 감소되면서 약화되었거나 혹은 시간 경과에 따라 나타나는 inactivation process 때문일 가능성이 있는 것으로 추측된다. 고농도의  $Mn^{2+}$ 에서 탈분극되고 막저항이 증가되면서 서파가 정지되는 현상은 1 mg/l verapamil시 탈분극되는 기전과 달리 세포막 표면으로부터  $Ca^{2+}$ 을 유리시키거나 대치시킴으로 일어난다고 해석은 하고 있으나(Sakamoto, 1985) 자세한 기전은 아직 모르고 있다.

## 결 론

위장 평활근의 자발적 수축에 대한 특성과 그 발생기전을 밝히기 위하여, 자발적 수축과 동시에 평활근 세포의 전기적 활동에 미치는  $Ca^{2+}$ 과  $Ca^{2+}$ -길항제의 효과를 여러 조건에서 관찰하였다. 실험에는 guinea-pig의 유문동 절편을 이용하여 자발적 수축을 기록하였고, 운상근 세포의 전기적 활동은 3 M-KCl을 채운 유리 미세전극을 세포내에 꽂고 기록하였으며, 막저항은 구간자극법(partition stimulating method)을 이용하여 전기긴장성 전압(electrotonic potential)을 측정하여 전류-전압 그래프를 그리고 직선의 기울기를 보아 구하였다. 모든 실험은 35°C에서 100%  $O_2$ 와 평형을 이루고 있는 tris-완충 Tyrode 용액에서 시행하였으며, 다음과 같은 결과를 얻었다.

1) 자발적 수축과 서파는 잘 연결되어 전기적 현상인 서파가 나타나면 기계적 현상인 자발적 수축이 뒤따라 일어났다. 서파에 가시전압이 터지면 뒤따르는 수축의 크기는 대조시에 비하여 6배 이상 큰 자발적 수축이 유발되었다.

2) 자발적 수축의 크기는 세포의  $Ca^{2+}$  농도가 2-4 mM 정도에서 최대값을 나타내었으나, 수축빈도는  $Ca^{2+}$  농도가 증가될수록 감소되는 즉 빈도와  $Ca^{2+}$  농도 간에는 역관계를 보였다.

3) 유기  $Ca^{2+}$ -길항제(organic  $Ca^{2+}$ -antagonist)인 verpamil은 자발적 수축의 크기를 감소시켰으나, 수축의 빈도에는 거의 영향을 나타내지 못하였다.

4) 무기  $Ca^{2+}$ -길항제(inorganic  $Ca^{2+}$ -antagonist)인  $Mn^{2+}$ 은 농도에 따라 그 효과가 달랐다. 낮은 농도(0.05 mM  $Mn^{2+}$  이하)에서는 자발적 수축의 크기와 빈도가 농도증가에 따라 증가되었으나, 높은 농도(0.1 mM  $Mn^{2+}$  이상)에서는 오히려 모두 감소되었고, 자발적 수축자체가 사라졌다.

5) 서파에 대하여  $Ca^{2+}$  농도를 높이면 서파의 높이와 탈분극 속도가 대조시 보다 증가되었고, 대조시 서파만을 발생시킨던 운상근 세포에서  $Ca^{2+}$  농도 증가시 불완전하나 작은 가시전압(abortive spike potential)이 생겨났다.

6)  $Ca^{2+}$ -free 용액에서는 서파의 높이와 탈분극 속

도가 감소되면서 자발적 수축도 사라졌고, 결국에는 서파도 정지되고 막전압이 탈분극 되면서 경축이 나타났다(Ca<sup>2+</sup>-free contracture).

7) 1 mg/l verapamil은 서파의 높이와 탈분극 속도를 감소시키면서 6 mV 정도 탈분극시켰으나, 서파빈도에서는 영향을 미치지 못하였다.

8) 서파에 대한 Mn<sup>2+</sup> 효과는 농도에 따라 다른 특이적인 현상을 나타내었다. 낮은 농도(0.05 mM Mn<sup>2+</sup>)에서는 서파의 세 가지 변수(서파높이, 탈분극 속도 및 빈도)가 처음에는 급히 증가되다가 곧이어 서서히 어떤 수준까지 감소되어 유지되었으나, 높은 농도(0.5 mM Mn<sup>2+</sup>)에서는 서파에 대한 효과가 낮은 농도에서처럼 시간경과에 따른 변화양상이 비슷하였으나 막전압이 탈분극되면서 서파가 사라졌다.

9) 막저항(membrane resistance)은 Ca<sup>2+</sup> 농도 증가시 별로 변하지 않았으나, verapamil(1 mg/l)첨가시 막전압이 탈분극되면서 막저항을 증가시켰다.

10) 낮은 농도의 Mn<sup>2+</sup>은 막저항을 약간 감소시켰으나, 높은 농도의 Mn<sup>2+</sup>에서는 탈분극되면서 막저항이 증가되었다.

위의 실험결과들을 토대로 다음과 같은 몇 가지 결론을 내릴 수 있었다.

1) 서파발생에는 반드시 소량이나마 Ca<sup>2+</sup>이 필요하다.

2) verapamil이 자발적 수축의 빈도에는 영향을 못미치고, 수축의 크기만을 농도 의존적으로 억제시키는 것은 verapamil이 서파발생에 관여되는 Ca<sup>2+</sup> 통로(혹은 Na-Ca 교환계)는 차단시키지 못하고, 가시활동전압을 일으키는 Ca<sup>2+</sup> 통로(Ca<sup>2+</sup>-channel)를 선택적으로 차단시키기 때문이다.

3) Mn<sup>2+</sup>은 Ca<sup>2+</sup> 통로에 대하여 이중작용을 하는 것으로 판단된다. 즉 낮은 농도에서는 서파발생과 관련된 Ca<sup>2+</sup> 통로(혹은 Na-Ca 교환계)와 가시활동전압 발생과 연관된 막전압 의존성의 Ca<sup>2+</sup> 통로를 모두 활성화시키나, 높은 농도에서는 이 Ca<sup>2+</sup> 통로 모두를 오히려 차단시키는 것으로 해석된다.

REFERENCES

Abe Y & Tomita T (1968). Cable properties of smooth muscle. *J Physiol* 196, 87-100

Bohr DF (1964). Electrolytes and smooth muscle contraction. *Pharmac Rev* 16, 85-111

Brading A, Bülbiring E & Tomita T (1969). The effect of sodium and calcium on the action potential of the smooth muscle of the guinea-pig taenia coli. *J Physiol* 200, 637-654

Connor JA, Prosser CL & Weems WA (1974). A study of pacemaker activity in intestinal smooth muscle. *J Physiol* 240, 671-701

El-Sharkawy TY, Morgan KG & Szurszewski JH (1978). Intracellular electrical activity of canine and human gastric smooth muscle. *J Physiol* 279, 291-307

El-Sharkawy & Szurszewski JH (1978). Modulation of canine antral circular smooth muscle by acetylcholine, noradrenaline, and pentagastrin. *J Physiol* 279, 309-320

Fleckenstein A (1964). Die Bedeutung der energiereichen Phosphate für Kontraktibilität und Tonus des Myokards. *Verh Dtsch Ges Inn Med* 70, 81-99

Fleckenstein A (1977). Specific pharmacology of calcium in myocardium, cardiac pacemaker, and vascular smooth muscle. *Ann Rev Toxicol* 17, 149-166

Golenhofen K & Loh (1970). elektrophysiologische Untersuchungen zur normalen Spontanaktivität der isolierten Taenia coli des Meerschweinchens. *Pflügers Arch ges Physiol* 314, 312-328

Golenhofen K, Loh DV & Milenov K (1970). Elektrophysiologische Untersuchungen zur Spontanaktivität isolierter Muskelpräparate aus verschiedenen Abschnitten des Meerschweinchen-Magen. *Pflügers Arch Ges Physiol* 315, 336-356

Golenhofen K & Lammal E (1972). Selective suppression of some components of spontaneous activity in various types of smooth muscle by iproveratril (verapamil). *Pflügers Arch* 331, 233-243

Hukuhara T & Fukuda H (1968). The electrical activity of guinea-pig small intestine with special reference to the slow wave. *Jap J Physiol* 18, 71-86

Ishikawa S, Komori K, Nagao T & Suzuki H (1985). Effects of diltiazem on electrical responses evoked spontaneously or by electrical stimulation in the antrum smooth muscle cells of the guinea-pig stomach. *Br J Pharmac* 86, 789-797

Kim KW & Kim WG (1985). Effects of Ca<sup>2+</sup>-antagonists on the electrical activity of guinea-pig taenia coli. *Kor J Physiol* 19, 1-13(in Korean)



- Kohlhardt M, Bauer P, Krause H & Fleckenstein A (1972). Differentiation of the transmembrane Na and Ca channel in mammalian cardiac fibers by the use of specific inhibitors. *Pflügers Arch* 335, 309-322
- Komori K & Suzuki H (1986). Distribution and properties of excitatory and inhibitory junction potentials in circular muscle of the guinea-pig stomach. *J Physiol* 370, 339-355
- Kuriyama H (1970). Effects of ions and drugs on the electrical activity of smooth muscle. In: Bülbiring et al (ed) *Smooth Musclean assessment of current Knowledge*. Edward Arnold, London, p. 366-395
- Kuriyama H, Osa T & Tasaki H (1970). Electrophysiological studies of the antrum muscle fibers of the guinea-pig stomach. *J Gen Physiol* 55, 48-62
- Liu J, Prosser CL & Job DD (1969). Ionic dependence of slow waves and spikes in intestinal muscle. *Am J Physiol* 217, 1542-1547
- Mangel AW, Connor JA & Prosser CL (1982). Effects of alterations in calcium levels on cat small intestine slow waves. *Am J Physiol* 243 (Cell Physiol 12), C7-C13
- Mashima H & Yoshida T (1965). Effect of length on the development of tension in guinea-pig's taenia coli. *Jap J Physiol* 15, 463-477
- Mashima H, Yoshida T & Handa M (1966). Contraction and relaxation of the guinea-pig's taenia coli in relation to spike discharges. *Jap J Physiol* 16, 304-315
- Oxhi E (1976). Manganese-dependent propagated action potentials and their depression by electrical stimulation in guinea-pig myocardium perfused by sodium-free media. *Jap J Physiol* 263, 139-156
- Ohba M, Sakamoto Y & Tomita T (1975). The slow wave in the circular muscle of the guinea-pig stomach. *J Physiol* 253, 505-516
- Ohba M, Sakamoto Y & Tomita T (1977). Effects of sodium, potassium and calcium ions on the slow wave in the circular muscle of the guinea-pig stomach. *J Physiol* 267, 167-180
- Osa T (1973). The effects of sodium, calcium and manganese on the electrical and mechanical activities of the myometrial smooth muscle of pregnant mice. *Jap J Physiol* 23, 113-133
- Papasova MP, Nagai T & Prosser CL (1968). Two component slow waves in smooth muscle of cat stomach. *Am J Physiol* 214, 695-702
- Prosser CL & Mangel AW (1982). Mechanisms of spike and slow wave pacemaker activity in smooth muscle cells. In: Carpenter DO (ed) *Cellular Pacemakers*, Vol 1. Mechanisms of Pacemaker Generation. A Wiley-Interscience Publication, John Wiley and Sons, p 273-301
- Sakamoto Y (1985). The effect of Mn on the electrical and mechanical activities in the guinea-pig stomach. *Jap J Physiol* 35, 853-866
- Sanders KM (1983). Excitation-contraction coupling without  $Ca^{2+}$  action potentials in small intestine. *Am J Physiol* 244 (Cell Physiol 13), C356-C361
- Szurszewski JH (1975). mechanism of action of pentagastrin and acetylcholine on the longitudinal muscle of canine antrum. *J Physiol* 252, 335-361
- Tomita T (1981). Electrical activity (spikes and slow waves) in gastrointestinal smooth muscles. In: Bülbiring et al.(ed) *Smooth Muscle-an assessment of current knowledge*. Edward Arnold, London, p 127-156