

## 기니피그 유문부 윤상근의 서파 및 자발적 수축에 대한 nitric oxide donor의 억제적 작용

김태완 · 라준호 · 양일석  
서울대학교 수의과대학 생리학교실  
(2000년 11월 23일 게재승인)

### The inhibitory action of nitric oxide donor on the slow wave and spontaneous contraction in the guinea pig antral circular muscle

Tae-wan Kim, Jun-ho La, Il-suk Yang

Department of Physiology, College of Veterinary Medicine, Seoul National University  
(Accepted by November 23, 2000)

**Abstract :** We investigated the effects of nitric oxide (NO) donors, S-nitroso-L-cysteine (Cys-NO) and 3-morpholiniosydnonimine hydrochloride (SIN-1), on the contractile and electrical activity of the circular muscle of guinea pig gastric antrum by using intracellular microelectrode technique. The gastric antral circular muscle showed spontaneous phasic contraction and slow wave of membrane potential. Cys-NO (0.001~10  $\mu$ M) and SIN-1 (0.01~100  $\mu$ M) reduced not only the tonic and phasic contraction but also the amplitude of slow wave in a concentration dependent manner. NO donors were more potent to inhibit phasic contraction than to do slow wave. These inhibitory effects of NO donors were mimicked by the membrane permeable guanosine-3',5'-cyclic monophosphate (cGMP) analogue, 8-bromo-cyclic GMP (8-br-cGMP, 10~300  $\mu$ M). The inhibitory effects of SIN-1 and Cys-NO were antagonized by the guanylate cyclase inhibitor, 1H-[1,2,4]oxadiazolo[4,3,-a]quinoxalin-1-one (ODQ, 10  $\mu$ M). These results suggest that the inhibitory effects of NO donors on the mechanical and electrical activity is mainly mediated by cGMP pathway.

**Key words :** guinea pig, gastric antrum, nitric oxide, slow wave, cGMP

## 서 론

위(stomach)는 일련의 조화된 운동을 통해 음식물을 보관, 혼합한 뒤 적절한 속도로 위 내용물을 십이지장으로 내려보내는, 소화과정의 개시에 있어 중요한 기능을 담당한 부위이다. 따라서, 위의 운동성에 이상이 생기면 각종 소화관 장애가 나타날 수 있다. 예를 들어, 이동속도가 너무 느리면 위 정체(retention)가 발생하고, 위 정체에 의해 폐쇄(obstruction)나 위 무력증(gastric atony)이 초래될 수 있다. 반대로 위배출이 빨라지면 강산성인 위 분비물이 빠르게 십이지장 내강에 들어오므로써 이 부위에 궤양(ulcer)을 유발하게 된다<sup>1</sup>.

십이지장으로의 위 내용물 배출은 위 유문부(antrum)

의 평활근 수축에 의해 이루어진다. 유문부 수축파는 위 장관의 다른 부위에서와 마찬가지로, 자발적이며 율동적인 전기적 리듬인 서파(slow wave)에 의해 개시된다. 따라서 서파에 의해 위상성 수축(phasic contraction)이 일어나게 되고, 결과적으로 조직의 긴장성(tonic) 수축이 방지된다. 서파는 이 외에도 수축력을 조절하고, 수축빈도를 결정하며, 전파되는 방향을 결정하는데 관여하는 등 위장관 운동에서 기능적으로 중요한 역할을 담당한다고 알려져 있으나<sup>2</sup>, 아직 정확한 발생기전은 밝혀지지 않았다.

서파는 근원성(myogenic)으로 생기지만 신경에 의해 영향을 받는다. 위장관 평활근의 운동성 억제는 주로 비아드레날린 비콜린성(non-adrenergic non-cholinergic;

이 논문은 1999년도 서울대학교 발전기금 일반학술연구비와 수의과대학 부속 수의과학연구소 연구비 지원에 의해 연구되었음.  
Address reprint requests to Dr. Il-suk Yang, College of Veterinary Medicine, Seoul National University, Suwon 441-744, Korea.

NANC) 신경에 의해 지배되는 것으로 알려져 있으며, NANC 신경의 주요한 억제성 신경전달물질로는 nitric oxide(NO)가 대두되고 있다<sup>3</sup>. NO는 주로 soluble guanylate cyclase를 활성화시켜 cGMP의 생성을 증가시키고, 증가된 cGMP가 2차 신호전달물질로 작용하여 세포내의 각종 경로를 활성화시킴으로써 평활근의 이완을 유발한다고 알려져 있다<sup>4</sup>.

본 실험은 위 유문부 윤상근의 서파 및 자발적 수축에 대해 NO가 어떠한 영향을 미치는지 확인하고, 다양한 조직으로부터 얻어진 기존의 연구결과를 기초로, 그 기전은 무엇인지 알아보고자 계획되었다.

## 재료 및 방법

### 실험동물 및 평활근 절편의 제작

체중 200-350 g의 기니피그 수컷을 사용하였으며, 둔기로 후두부를 강타하여 기절시킨 후 경정맥을 절단하여 실험시키고, 위 유문부를 분리하였다. 분리한 위 유문부를 Krebs 용액이 담긴 넓은 초자용기에서 점막층을 제거한 후 윤상근 방향을 따라 2×6 mm의 크기로 절편을 만들었다. 이때 Krebs 용액에 혼합가스(95% O<sub>2</sub>+5% CO<sub>2</sub>)를 계속 공급하였다.

### 근장력과 세포막전압의 측정

평활근의 장력과 세포막전압을 세포내 유리미세전극법(intracellular microelectrode technique)을 이용하여 동시에 기록하였다. 2 ml 용량의 수평형 organ bath 안에 있는 sylgard plate에 절편의 한쪽 절반 정도를 핀으로 고정시켜 전극삽입을 용이하게 하였고, 다른 쪽은 고리를 만들어 동축성 근수축변환기(Maclab, MLT-100)에 연결하여 0.5 g의 기본장력을 가하였다. 핀으로 고정된 부분의 평활근에 유리미세전극을 삽입하여 평활근의 세포막전압을 측정하였다. 유리미세전극은 3M KCl로 채운 후 tip 저항이 30~80 MΩ 인 것을 사용하였으며, 유리전극에서 오는 신호는 표준 electrometer인 Duo 773(WPI, U.S.A)을 통해 기록하였다. 유리미세전극으로부터 오는 세포의 전기적 신호는 근수축변환기로부터 오는 기계적 신호와 함께 데이터 통합장치인 Maclab/2e(AD Instruments)를 통해 동시에 기록하였으며, 이러한 데이터의 기록과 저장은 매킨토시 LC III와 소프트웨어인 Chart 3.51을 이용하였다.

실험하는 동안 혼합가스(95% O<sub>2</sub>+5% CO<sub>2</sub>)를 주입시키고 미리 가온한 용액(pH 7.4)을 peristaltic pump를 이용하여 bath 안으로 일정한 속도(1.6 ml/min)로 계속적으로 관류시켰으며, bath 안의 온도를 37±0.5°C로 유지시켰다.

### 사용약물의 조제와 보관

본 실험에서 사용한 약물은 다음과 같다.

3-Morpholinosydnonimine hydrochloride (SIN-1, RBI), sodium nitrite (Avondale Laboratories), L-cystein (Sigma), 1H-[1,2,4]oxadiazolo[4,3,-a]quinoxalin-1-one (ODQ, RBI), 8-bromo-cyclic GMP (Sigma), 8-bromo-cyclic AMP (Sigma), dimethyl sulfoxide (DMSO, Sigma).

ODQ는 DMSO에 녹였고 그 외 나머지 시약들은 증류수에 녹여서 0.1~100 mM의 stock 용액을 만든 후 실험전에 희석하여 최종 농도가 되게 하였다. S-nitroso-L-cystein (Cys-NO)은 Barbier와 Lefebvre<sup>5</sup>가 제시한 방법에 따라 직접 조제하여 사용하였다. 즉, 실험직전에 20 mM의 NaNO<sub>2</sub>(pH 2.0) 용액과 20 mM의 L-cystein (pH 2.0) 용액을 동량 혼합해 만들고 4°C 이하에서 차광상태로 보관하며 사용하였으며, 필요한 경우 증류수(pH 2.0)로 희석하여 사용하였다.

Krebs 용액의 조성은 다음과 같다 (mM); NaCl 118, KCl 4.7, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1.2, MgSO<sub>4</sub> 1.2, NaHCO<sub>3</sub> 25, CaCl<sub>2</sub> 2.5, glucose 11, pH 7.4 by HCl.

### 자료분석 및 통계

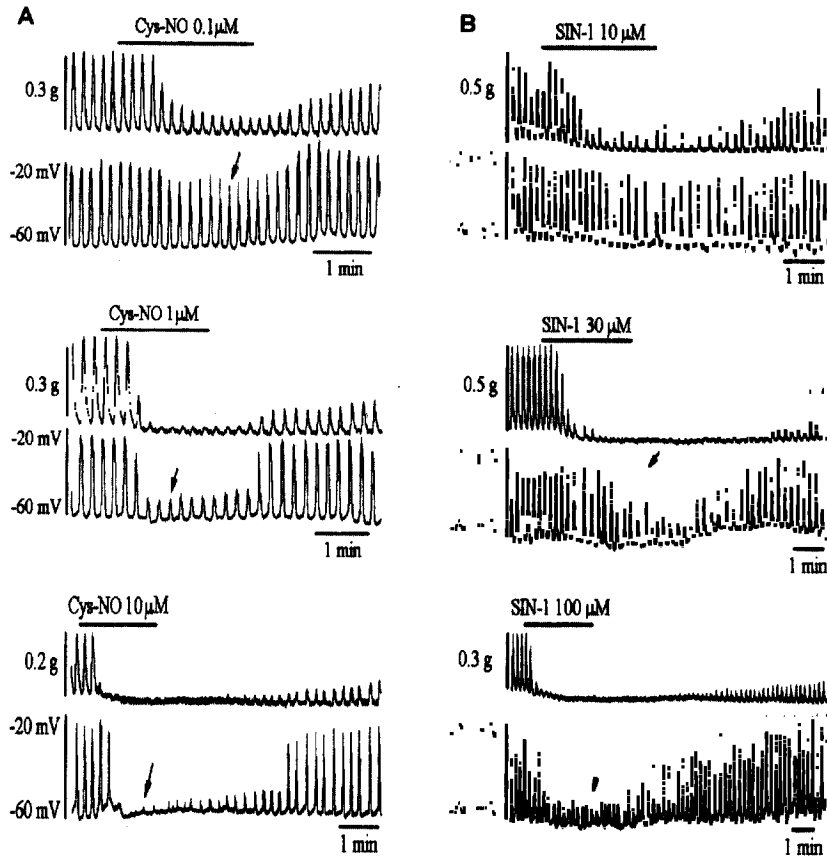
한 개의 위상성 수축 또는 서파의 크기를 자료로 사용하지 않고, 약물 투여 전과 후의 3개 또는 5개의 연속된 위상성 수축과 이에 상응하는 서파의 최고 크기를 각각 평균한 값을 자료로 사용하였으며, 약물 투여후의 평균값을 투여 전의 값에 대한 백분율(%)로 계산하여 mean ± S.E.M.으로 나타내었다. 유의성 검정은 student t-test를 사용하여 P<0.05 일 때 유의성이 있는 것으로 간주하였다.

## 결 과

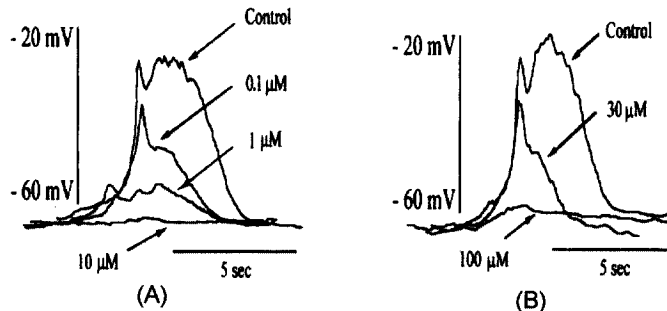
### Nitric oxide donor들이 자발적 운동 및 서파에 미치는 영향

기니피그 위 유문동 윤상근의 절편은 자발적 운동과 서파를 나타내었다. 이 때 횡수는 분당 5.1±0.2(3~7)회를 나타내었으며, 안정막 전압은 -62.2±0.75 mV(-55~-70 mV)를 나타내었고 서파의 크기는 평균적으로 35.9±0.8 mV (26~42 mV)를 나타내었다(n=46). 이러한 값은 주로 실험 초기의 값을 갖고 평균을 구한 것이며, 시간이 경과되면 서파의 크기가 다소 작아지는 경향이 나타났다.

Nitric oxide donor로 알려진 S-nitroso-L-cysteine (Cys-NO, 0.001~10 μM)과 3-morpholinosydnonimine hydrochloride (SIN-1, 0.01~100 μM)를 각각 3분간 투여하였을 때, 농도 의존적으로 위상성 수축과 서파의 크기가 모두 감소



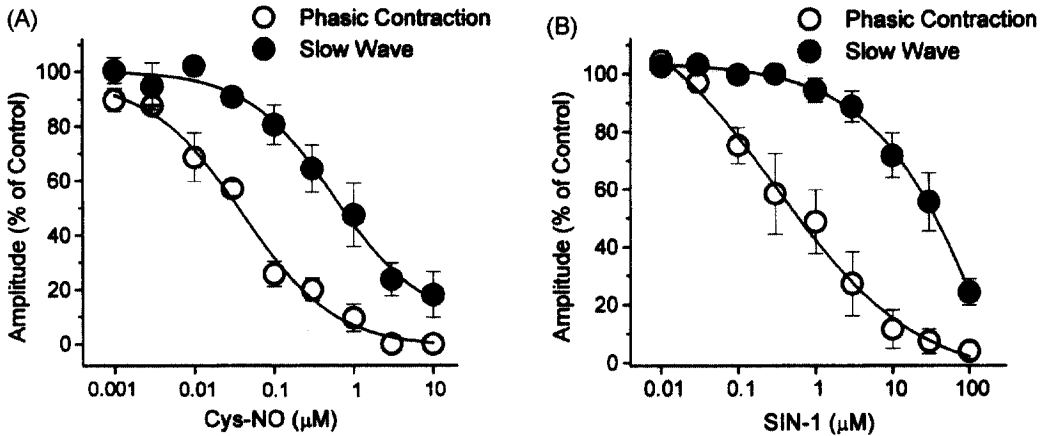
**Fig 1.** Original tracings of isometric tension and electrical activity showing the effects of nitric oxide donors on the spontaneous contraction and slow waves of the circular smooth muscle of guinea pig gastric antrum. Cys-NO (A) and SIN-1 (B) reduced both phasic contraction and slow waves in a dose-dependent manner.



**Fig 2.** Effects of NO donors on the slow wave of gastric antral circular smooth muscle of guinea pig. Cys-NO (A) and SIN-1 (B) dose-dependently reduced the amplitude of slow waves. Sampling sites were indicated by arrows in Fig 1.

되었다(Fig 1). 이러한 반응은 가역적이어서 세척 후에는 모두 투여전의 크기로 회복되었으며, 위상성 수축보다는 서파가 더 빠르게 회복되었다. 농도가 증가함에 따라 두 물질 모두 서파의 지속시간과 upstroke 및 plateau의 크기를 감소시켰으며, 특히 plateau 크기의 감소가 현

저하였다(Fig 2). 수축의 경우 긴장성 수축(tonic contraction) 역시 감소되는 것이 관찰되었다. 그러나 서파에 대한 영향보다는 수축에 대한 영향이 훨씬 강력하여, 위상성 수축과 서파의 크기를 50%로 감소시키는데 필요한 농도(IC<sub>50</sub>)는, Cys-NO의 경우 각각 0.04, 0.70 μM 이었으며,



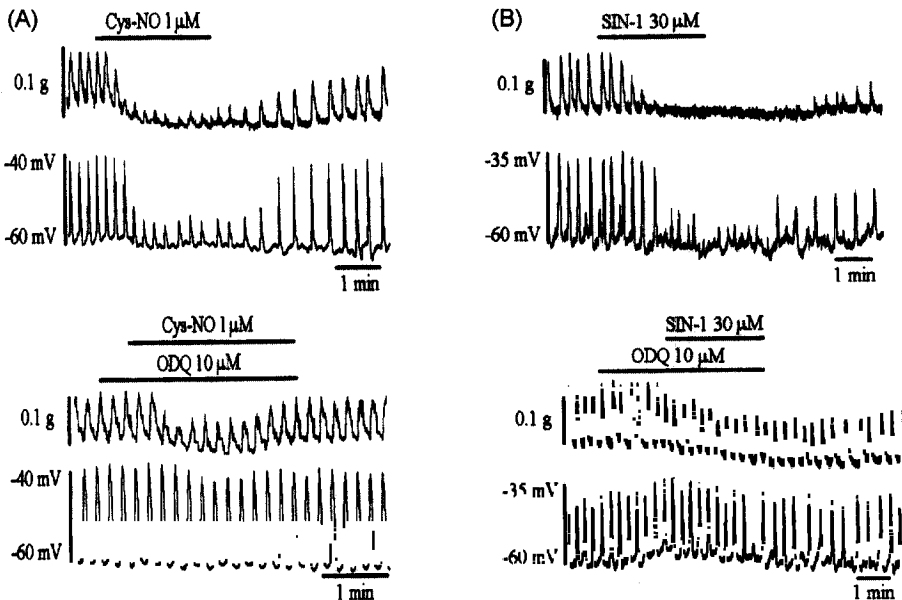
**Fig 3.** Summarized graph showing the effects of Cys-NO (A) and SIN-1 (B) on the contraction and slow waves of circular smooth muscle of the guinea pig gastric antrum. Spontaneous contraction was more sensitive to NO donors than slow wave. Phasic contraction was abolished by SIN-1 10  $\mu$ M but slow wave still remained at 100  $\mu$ M. (Cys-NO: n=4, SIN-1: n=7).

SIN-1의 경우 각각 0.57, 36.5  $\mu$ M 이었다. Cys-NO가 SIN-1 보다 더 강한 억제효과를 나타내었는데 서파의 경우에서 그러한 경향이 더욱 뚜렷하게 나타났다 (Fig 3).

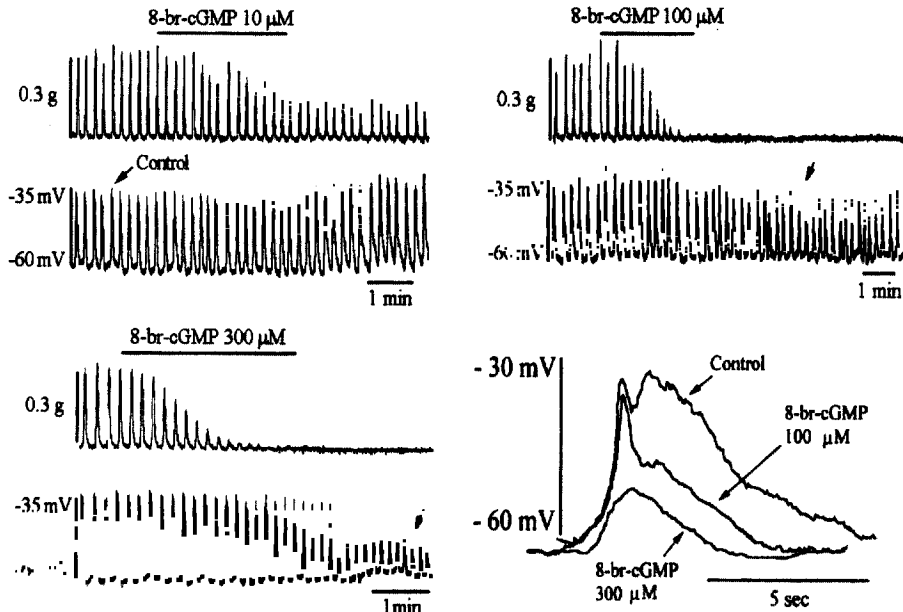
**cGMP/protein kinase G 경로 확인**

Nitric oxide는 일반적으로 guanylate cyclase을 활

성화시켜 세포내 cGMP의 농도를 증가시킴으로써 반응을 유발하는 것으로 알려져 있다. 또한 cGMP는 주로 cGMP-dependent protein kinase(PKG)를 활성화시키는 것으로 생각되고 있다. 따라서 본 실험에서는 기니피그 위 유문동 윤상근에 대한 nitric oxide의 작용이 이러한 cGMP/PKG 경로를 통해 이루어지는가를 확인하고자 하였다.



**Fig 4.** Original tracings showing the effects of ODQ, guanylate cyclase inhibitor, on the action of Cys-NO (A) and SIN-1 (A). ODQ (10  $\mu$ M) almost abolished the inhibitory action of Cys-NO (1  $\mu$ M) and SIN-1 (30  $\mu$ M) on the spontaneous contraction and slow wave of circular smooth muscle of guinea pig gastric antrum.



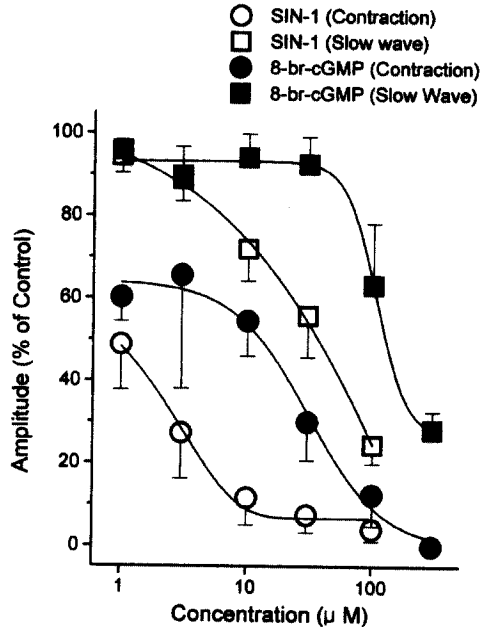
**Fig 5.** Original tracings showing the effects of 8-br-cGMP on the spontaneous contraction and slow wave of circular smooth muscle of guinea pig gastric antrum. 8-br-cGMP dose-dependently reduced both phasic contraction and slow wave.

(1) Guanylate cyclase inhibitor의 효과

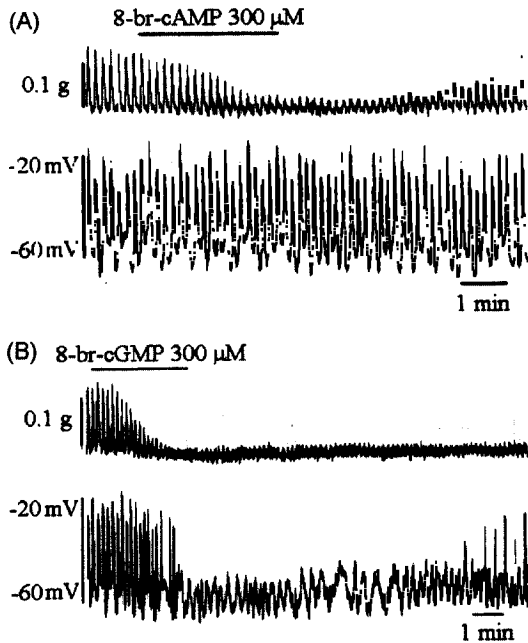
Guanylate cyclase inhibitor 인 1H-[1,2,4]oxadiazolo[4,3-a]quinoxalin-1-one(ODQ, 10 μM)을 전처치 한 후 Cys-NO (1 μM), SIN-1(30 μM)을 각각 투여하였을 때, 두 NO donor 모두 기니피그 위 유문동 윤상근의 자발적 수축과 서파에 대해 거의 영향을 주지 못하였다. 즉 ODQ에 의해 NO donor의 작용이 거의 차단되었다(Fig 4).

(2) 8-br-cGMP의 작용

위상성 수축과 서파에 대한 NO의 작용이 cGMP 경로에 의한 것인가를 다시 확인하기 위해 guanosine-3',5'-cyclic monophosphate(cGMP)의 막투과성 유도체인 8-bromo-cyclic GMP(8-br-cGMP, 1~300 μM)를 투여하여 그 반응을 살펴보았다. 8-br-cGMP도 역시 기니피그 위 유문동 윤상근의 자발적 수축과 서파를 농도의존적으로 억제하였다(Fig 5). 위상성 수축과 서파의 크기를 50%로 감소시키는데, 각각 12.3, 125.8 μM의 8-br-cGMP가 필요하였다. 따라서 8-br-cGMP 100 μM을 투여하였을 경우 수축은 거의 차단되었으나, 서파의 크기는 약 30%만이 감소되었다(Fig 6). 8-br-cGMP가 서파보다 위상성 수축에 대해 훨씬 영향이 크다는 점과, 농도가 증가함에 따라 먼저 서파의 plateau 크기와 지속시간을 현저하게 감소시키고, 이어서 upstroke의 크기도 감소시키는 점은 두 NO donor에 의한 반응과 유사하였다(Fig 5 & Fig 2). 그러나 같은 정도의 억제를 나타내는데 있어서는 두 NO 공여물질 보다 훨씬 높은 농도의 8-br-cGMP를 필요로



**Fig 6.** Comparison between the effects of SIN-1 and those of 8-br-cGMP on the spontaneous contraction and slow wave in the circular smooth muscle of guinea pig gastric antrum. Spontaneous contraction was more sensitive to both 8-br-cGMP and SIN-1 than slow wave. Phasic contraction was abolished by 8-br-cGMP 100 μM but slow wave was reduced by about 30% at the same concentration. (SIN-1: n = 7, 8-br-cGMP; n = 4).



**Fig 7.** Comparison between the effects of 8-br-cGMP (A) and those of 8-br-cAMP (B) on the spontaneous contraction and slow wave in the circular smooth muscle of guinea pig gastric antrum. 8-br-cAMP (300  $\mu$ M) markedly reduced the phasic contraction but it has no inhibitory effect on slow wave. 8-br-cGMP (300  $\mu$ M) abolished the phasic contraction and reduced the amplitude of slow wave.

하였다.

### (3) 8-br-cGMP와 8-br-cAMP의 작용 비교

수축에 대한 영향력이 서파에 대한 영향력보다 훨씬 강력한 것으로 나타남에 따라 수축에 대한 경로와 서파에 대한 경로가 다를 수 있고, 특히 cAMP와 cGMP는 서로 교차반응을 일으킬 수 있는 것으로 보고되고 있으므로, cGMP가 cAMP 경로를 통해 간접적으로 서파에 작용하는가를 확인하기 위해 고농도의 cAMP와 cGMP의 유도체를 투여하여 그 작용을 비교하였다.

기니피그 유문동 윤상근 절편에 8-br-cAMP(300  $\mu$ M)를 투여하였을 경우 위상성 수축은 현저하게 감소되었으나, 서파의 크기는 거의 변하지 않았다. 반면에 같은 세포에서 8-br-cGMP(300  $\mu$ M)를 투여하였을 때 위상성 수축은 완전히 차단되었으며, 서파의 크기도 현저하게 감소되는 것을 관찰할 수 있었다(Fig 7).

## 고 찰

### 위장관에서 NO의 역할

위장관에서 nitric oxide(NO)는 억제성 비아드레날린

비콜린성(nonadrenergic noncholinergic) 신경전달물질로 작용하여 위장관 평활근을 이완시키거나 수축력을 감소시키는 기능을 수행한다. 위장관의 각 부위별로 NO의 역할을 살펴보면 NO는 식도의 연동(peristalsis) 운동에 관여하며<sup>6</sup>, 하부식도괄약근(lower esophagus sphincter muscle)의 이완을 유발한다<sup>7</sup>. 위저부(fundus)에서 NO는 수용성이완(receptive relaxation)을 유발하여 음식물을 일시적으로 저장하는 것을 가능하게 하며<sup>5,8,9</sup>, 유문동(antrum)과 유문(pyrrus)의 운동성을 감소시켜 위 내용물이 십이지장으로 이동하는 위배출(gastric emptying)을 조절한다<sup>10,11</sup>. 또한 소장<sup>12,13</sup>과 대장<sup>14-16</sup>에서의 연동운동에 관여한다. 이러한 위장관 평활근의 운동조절 외에 NO는 위 점막보호<sup>17,18</sup>와 위액 분비조절<sup>19</sup>, 소장에서의 물과 전해질 이동<sup>20</sup> 등에 관여한다고 알려져 있다.

### NO donor의 적용

NO는 반감기가 수 초에 지나지 않는 아주 불안정한 물질로 알려져 있다. 따라서 본 실험에서는 NO 대신에 좀 더 안정한 NO의 donor인 Cys-NO와 SIN-1을 사용하였다. 두 donor는 기니피그 유문동 윤상근의 자발적 위상성 수축과 서파에 대해 서로 유사한 반응을 나타냈으나, 두 donor의 억제력을 비교하여 볼 때 Cys-NO가 SIN-1보다 강력한 억제력을 보였다. 이는 Cys-NO가 빠르게 NO를 유리시키므로 결과적으로 동량의 SIN-1보다 일시적으로 높은 농도의 NO가 만들어지기 때문인 것으로 생각된다. Cys-NO는 생리적 환경에서 S-nitrosothiol 중 반감기가 가장 짧아 nitrenergic 신경의 전장자극에 의한 평활근의 이완반응과 가장 유사한 반응을 일으킨다고 보고되어 있다<sup>5,21</sup>. 또한 본 실험에서 SIN-1의 억제효과가 washing out 후에도 어느 정도 지속되는 반면에 Cys-NO에 의한 억제효과는 Cys-NO가 투여되는 동안에도 점차 감소되는 양상을 보여 주었다. 이것은 Cys-NO가 아주 빠르게 NO를 유리, 소모시킨다는 것을 나타낸다.

### 서파와 위상성 수축에 대한 NO의 작용

위장관은 외부신경의 지배없이 근원성(myogenic)의 운동을 나타내고 있으며, 이러한 운동은 자발적이고 율동적인 탈분극 즉, 서파에 의해 지배되고 있는 것으로 알려져 있다.

Cys-NO와 SIN-1은 기니피그 위 유문동 윤상근의 자발적 수축과 서파의 크기를 농도 의존적으로 감소시켰고, 서파보다는 위상성 수축에 대해 더 큰 억제효과를 나타내었다. 서파의 모양변화를 보면 Cys-NO와 SIN-1의 농도가 증가됨에 따라 먼저 plateau와 지속시간이 현저하게 감소되었고 이어서 upstroke도 감소되었다. 두 NO 공

여물질의 이러한 작용은 guanylate cyclase 억제제인 ODQ에 의해 거의 억제되었다. 또한 cGMP의 세포막 투과성 유도체인 8-br-cGMP는 NO 공여물질들과 유사한 반응을 유발하였다.

NO가 서파 plateau의 크기와 지속시간을 감소시킨다는 것은 개의 유문동<sup>22</sup>, 회장 평활근<sup>23</sup>에서 보고된 것과 일치하나 서파 upstroke의 크기도 감소시킨다는 것은 개의 유문동<sup>22</sup>에서 보고된 것과 상충된다. 그것은 아마도 이 조직에서 낮은 농도의 SNP(0.5  $\mu\text{M}$ )를 사용했기 때문이라고 생각된다. 이번 실험에서도 서파의 크기를 감소시키기 위해서는 위상성 수축에 비해 훨씬 고농도의 NO 공여물질이 필요했다는 것이 이를 뒷받침 한다.

### NO에 대한 위상성 수축과 서파의 감수성 차이

고농도의 8-br-cGMP는 cAMP에 의해 활성화되는 protein kinase A(PKA)와 교차반응을 일으킬 수 있다는 보고<sup>24</sup>와 고양이 결장 종주근<sup>25</sup>에서 cAMP가 서파의 생성에 관여한다는 보고를 감안할 때, 본 실험에서 위상성 수축과 서파에 대한 NO의 영향력이 큰 차이를 보이는 이유로서 8-br-cGMP가 cAMP 경로에 작용하여 서파에 작용할 가능성을 생각할 수 있었다. 더구나 Tsugeno 등<sup>26</sup>은 기니피그 위 유문동 윤상근에서 여러 phosphodiesterase (PDE) inhibitor와 forskolin과 같은 세포내 cAMP의 농도를 높여주는 물질을 투여했을 때 역시 서파의 빈도가 감소되는 것으로 보아 cAMP가 서파의 생성에 영향을 줄 것이라고 보고하였다. 그러나, 정작 cAMP의 유도체인 db-cAMP, 8-br-cAMP를 투여하였을 때는 그 효과가 PDE inhibitor에 비해 너무 미약한 것을 관찰하고 cGMP가 서파에 작용할 수 있다는 가능성도 제기하였다. 이를 확인하기 위한 본 실험에서는 고농도의 8-br-cAMP(300  $\mu\text{M}$ )에 의해 위상성 수축은 현저하게 감소되었으나 서파는 거의 영향을 받지 않았고, 반면에 같은 조직에서 8-br-cGMP(300  $\mu\text{M}$ )를 투여했을 때 위상성 수축은 완전히 차단되었고 서파의 크기도 현저하게 감소되는 것을 관찰하였다. 따라서 기니피그 유문동 윤상근에서는 cAMP가 관여하는 것이 아니라 cGMP가 서파의 생성에 관여하리라고 추정할 수 있다. 또한 8-br-cAMP(300  $\mu\text{M}$ )에 의해 비록 현저하게 감소되었으나 여전히 위상성 수축이 남아 있는 것으로 보아 cAMP에 의한 수축 억제 반응은 그 자체성질에 의한 것이 아니라 cGMP와의 교차반응에 의해 일어난 것일 가능성이 있다. 이러한 추측은 cAMP와 cGMP 모두 PKG를 활성화시킬 수 있으나 cAMP의 경우 훨씬 고농도가 필요하다는 보고<sup>27</sup>가 뒷받침 한다. 따라서 비록 감수성 차이는 있지만 위상성 수축과 서파의 크기 감소는 모두 cGMP 경로에 의한 것

이라고 할 수 있다. NO에 대한 위상성 수축과 서파의 감수성의 차이를 아직 설명할 수 없지만, NO가 세포내  $\text{Ca}^{2+}$  농도를 낮추는 것 외에 수축단백질의  $\text{Ca}^{2+}$ 에 대한 감수성을 낮추는 것<sup>28,29</sup>이 하나의 원인이 될 수 있다고 생각된다.

### NO의 작용기전

NO는 일반적으로 soluble guanylate cyclase(sGC)를 활성화시켜 세포내 cGMP의 농도를 증가시키고, cGMP는 PKG를 활성화시켜 이온통로 등과 같은 세포내 표적단백질을 인산화시킴으로써 세포반응을 유발하는 것으로 알려지고 있다<sup>4,30</sup>. 그러나 이러한 기전이 모든 세포에 적용되는 것은 아니다. 랫드의 십이지장<sup>31</sup>, 근위결장<sup>32</sup>, 기니피그와 원숭이의 자궁평활근<sup>33,34</sup> 등은 NO에 의한 반응이 cGMP에 비의존적으로 일어난다는 보고가 있고, 혈관평활근<sup>35,36</sup>과 기니피그 근위결장<sup>37</sup>에서는 NO가 표적단백질에 직접 결합하여 반응을 유발한다고 보고되었다. cGMP는 조직에 따라 PKG를 통해 반응을 일으키지 않고 이온통로에 직접 작용하는 경우와 PDE에 작용하는 경우들이 보고되고 있다<sup>38</sup>. 이외에도 아직 발견되지 않은 새로운 기전이 있을 수 있다<sup>39</sup>.

이상의 내용을 종합해보면, NO는 기니피그 위 유문동 평활근의 자발적 운동과 서파에 대해 억제적으로 작용하는데, 이러한 작용이 guanylate cyclase의 억제제인 ODQ에 의해 거의 차단되고, cGMP의 유도체인 8-br-cGMP가 의해 NO의 공여물질들과 유사한 반응을 나타내며, cAMP의 유도체인 8-br-cAMP는 서파에 거의 영향을 주지 않는 것으로 보아 NO의 작용은 cGMP에 의존적인 것으로 보이나 그것이 PKG에 의한 것인지는 아직 불확실하다.

## 결론

기니피그 유문부 윤상근 절편은 자발적 수축과 서파를 나타내었고, Cys-NO(0.001~10  $\mu\text{M}$ )와 SIN-1(0.01~100  $\mu\text{M}$ )은 농도의존적으로 긴장성 수축과 위상성 수축을 감소시킬 뿐만 아니라 서파의 크기도 농도의존적으로 감소시켰으며, 서파보다는 위상성 수축에 대한 억제효과가 더 강력하였다. 이러한 현상은 cGMP의 유도체인 8-br-cGMP(1~300  $\mu\text{M}$ )에 의해서도 유발되었다. 또한 NO 공여물질에 의한 반응은 guanylate cyclase inhibitor인 1H-[1,2,4]oxadiazolo[4,3,-a]quinoxalin-1-one(ODQ, 10  $\mu\text{M}$ )에 의해 억제되었다. 이상의 결과로 보아 기니피그 위 유문동의 자발적 운동과 서파에 대한 NO의 작용은 주로 cGMP 의존적인 경로에 의해서 일어나는 것으로 사료된다.

## 참고 문헌

1. Porth CM. Alterations in gastrointestinal function *In* Pathophysiology (CM Porth ed), 4 edn, 817-841. J B Lippincott company, 1994.
2. Huizinga JD. Action potentials in gastrointestinal smooth muscle. *Can J Physiol Pharmacol*, 69:1133-1142, 1991.
3. Bredt DS, Snyder SH. Nitric oxide, a novel neuronal messenger. *Neuron*, 8:3-11, 1992.
4. Schmidt HH, Lohmann SM, Walter U. The nitric oxide and cGMP signal transduction system: regulation and mechanism of action. *Biochim Biophys Acta*, 1178:153-175, 1993.
5. Barbier AJ, Lefebvre RA. Influence of S-nitrosothiols and nitrate tolerance in the rat gastric fundus. *Br J Pharmacol*, 111:1280-1286, 1994.
6. Anand N, Paterson WG. Role of nitric oxide in esophageal peristalsis. *Am J Physiol*, 266:G123-131, 1994.
7. Mizumoto A, Mochiki E, Suzuki H, *et al.* Neuronal control of motility changes in the canine lower esophageal sphincter and stomach in response to meal ingestion [In Process Citation]. *J Smooth Muscle Res*, 33:211-222, 1997.
8. Li CG, Rand MJ. Nitric oxide and vasoactive intestinal polypeptide mediate non-adrenergic, non-cholinergic inhibitory transmission to smooth muscle of the rat gastric fundus. *Eur J Pharmacol*, 191:303-309, 1990.
10. Lefebvre RA, Smits GJ, Timmermans JP. Study of NO and VIP as non-adrenergic non-cholinergic neurotransmitters in the pig gastric fundus. *Br J Pharmacol*, 116:2017-2026, 1995.
11. Konturek JW, Thor P, Domschke W. Effects of nitric oxide on antral motility and gastric emptying in humans. *Eur J Gastroenterol Hepatol*, 7:97-102, 1995.
12. Anvari M, Paterson CA, Daniel EE. Role of nitric oxide mechanisms in control of pyloric motility and transpyloric flow of liquids in conscious dogs. *Dig Dis Sci*, 43:506-512, 1998.
13. Suzuki N, Mizuno K, Gomi, Y. Role of nitric oxide in the peristalsis in the isolated guinea-pig ileum. *Eur J Pharmacol*, 251:221-227, 1994.
14. Fox-Threlkeld JE, Woskowska Z, Daniel EE. Sites of nitric oxide (NO) actions in control of circular muscle motility of the perfused isolated canine ileum. *Can J Physiol Pharmacol*, 75:1340-1349, 1997.
15. Grider JR. Interplay of VIP and nitric oxide in regulation of the descending relaxation phase of peristalsis. *Am J Physiol*, 264:G334-340, 1993.
16. Ciccocioppo R, Onori L, Messori, E, *et al.* Role of nitric oxide-dependent and -independent mechanisms in peristalsis and accommodation in the rabbit distal colon. *J Pharmacol Exp Ther*, 270:929-937, 1994.
17. Foxx-Orenstein AE, Grider JR. Regulation of colonic propulsion by enteric excitatory and inhibitory neurotransmitters. *Am J Physiol*, 271:G433-437, 1996.
18. Yu H, Sato EF, Minamiyama Y, *et al.* Effect of nitric oxide on stress-induced gastric mucosal injury in the rat. *Digestion*, 58:311-318, 1997.
19. Nishida K, Ohta Y, Ishiguro I. Role of gastric mucosal constitutive and inducible nitric oxide synthases in the development of stress-induced gastric mucosal lesions in rats. *Biochem Biophys Res Commun*, 236:275-279, 1997.
20. Molero M, Hernandez IM, Lobo P, *et al.* Modulation by nitric oxide of gastric acid secretion in toads. *Acta Physiol Scand*, 164:229-236, 1998.
21. Izzo AA, Mascolo N, Capasso F. Nitric oxide as a modulator of intestinal water and electrolyte transport. *Dig Dis Sci*, 43:1605-1620, 1998.
22. Thornbury KD, Ward SM, Dalziel HH, *et al.* Nitric oxide and nitrosocysteine mimic nonadrenergic, noncholinergic hyperpolarization in canine proximal colon. *Am J Physiol*, 261:G553-557, 1991.
23. Ozaki H, Blondfield DP, Hori M, *et al.* Spontaneous release of nitric oxide inhibits electrical, Ca<sup>2+</sup> and mechanical transients in canine gastric smooth muscle. *J Physiol (Lond)*, 445:231-247, 1992a.
24. Cayabyab FS, Jimenez M, Vergara P, *et al.* Influence of nitric oxide and vasoactive intestinal peptide on the spontaneous and triggered electrical and mechanical activities of the canine ileum. *Can J Physiol Pharmacol*, 75:383-397, 1997.
25. Jiang H, Shabb JB, Corbin JD. Cross-activation: overriding cAMP/cGMP selectivities of protein kinases in tissues. *Biochem Cell Biol*, 70:1283-1289, 1992.
26. Anuras S. cAmp and calcium in generation of slow waves in cat colon. *Am J Physiol*, 242:G124-127, 1982.
27. Tsugeno M, Huang SM, Pang YW, *et al.* Effects of phosphodiesterase inhibitors on spontaneous electrical activity (slow waves) in the guinea-pig gastric muscle. *J Physiol (Lond)*, 485:493-502, 1995.
28. Lincoln TM, Cornwell TL, Taylor AE. cGmp-dependent protein kinase mediates the reduction of Ca<sup>2+</sup> by cAmp in vascular smooth muscle cells. *Am J Physiol*, 258: C399-407, 1990.
29. Nishimura J, van Breemen C. Direct regulation of smooth muscle contractile elements by second messengers. *Biochem Biophys Res Commun*, 163:929-935, 1989.
30. McDaniel NL, Chen XL, Singer HA, *et al.* Nitrovasodilators relax arterial smooth muscle by decreasing [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub> and uncoupling stress from myosin phosphorylation. *Am J Physiol*, 263:C461-467, 1992.
31. McDonald LJ, Murad F. Nitric oxide and cyclic GMP signaling. *Proc Soc Exp Biol Med*, 211:1-6, 1996.
32. Martins SL, De Oliveira RB, Ballejo G. Rat duodenum nitrenergic-induced relaxations are cGMP-independent and apamin-sensitive. *Eur J Pharmacol*, 284:265-270, 1995.
33. Takeuchi T, Kishi M, Ishii T, *et al.* Nitric oxide-mediated relaxation without concomitant changes in cyclic GMP content of rat proximal colon. *Br J*



- Pharmacol*, 117:1204-1208, 1996.
34. Kuenzli KA, Bradley ME, Buxton IL. Cyclic GMP-independent effects of nitric oxide on guinea-pig uterine contractility. *Br J Pharmacol*, 119:737-743, 1996.
  35. Kuenzli KA, Buxton IL, Bradley ME. Nitric oxide regulation of monkey myometrial contractility. *Br J Pharmacol*, 124:63-68, 1998.
  36. Bolotina VM, Najibi S, Palacino JJ, *et al.* Nitric oxide directly activates calcium-dependent potassium channels in vascular smooth muscle. *Nature*, 368:850-853, 1994.
  37. Mistry DK, Garland CJ. Nitric oxide (NO)-induced activation of large conductance  $Ca^{2+}$ -dependent  $K^{+}$  channels (BK(Ca)) in smooth muscle cells isolated from the rat mesenteric artery. *Br J Pharmacol*, 124:1131-1140, 1998.
  38. Lang RJ, Watson MJ. Effects of nitric oxide donors, S-nitroso-L-cysteine and sodium nitroprusside, on the whole-cell and single channel currents in single myocytes of the guinea-pig proximal colon. *Br J Pharmacol*, 123:505-517, 1998.
  39. Lincoln TM, Cornwell TL. Intracellular cyclic GMP receptor proteins. *Faseb J*, 7:328-338, 1993.