

Cyclic AMP-PKA System이 억제성 및 흥분성 한약재에 의해 유발된 이온전류에 미치는 영향

김연정¹ · 신민철¹ · 정주호² · 이충열³ · 김이화⁴ · 김창주¹

경희대학교 의과대학 생리학교실¹, 경희대학교 의과대학 약리학교실²,
경원대학교 한의과대학 생리학교실³, 세명대학교 한의과대학 경혈학교실⁴

Modulation of Cyclic AMP-PKA System on Inhibitory and Excitatory Herbs-induced Ion Currents

Youn-Jung Kim¹ · Min-Chul Shin¹ · Joo-Ho Chung² · Choong-Yeol Lee³
Ee-Hwa Kim⁴ · Chang-Ju Kim¹

*Dept. of Physiology, College of Medicine, Kyung Hee University¹,
Dept. of Pharmacology, College of Medicine, Kyung Hee University²,
Dept. of Physiology, College of Oriental Medicine, Kyung Won University³,
Dept. of Meridianology, College of Oriental Medicine, Se Myung University⁴*

Abstract

Modulatory effect of cAMP-PKA system on inhibitory- and excitatory herbs-induced ion currents were investigated by nystatin-perforated patch clamp method under voltage-clamp condition.

Ion currents induced by Bupleuri radix and Coptidis rhizoma were not affected by cAMP-PKA system. Ion current induced by Ecliptae herba was partially inhibited by cAMP-PKA system.

Ion currents induced by Aconiti tuber and Boshniakiae herba were inhibitory modulated and ion current induced by Zingiberis rhizoma was excitatory modulated by cAMP-PKA system. Modulation of cAMP-PKA system on ion currents induced by Ginseng radix was fluctuated.

In this results, it can be seen generally that excitatory herbs-induced ion currents were modulated by cAMP-PKA system while cAMP-PKA system did not affect inhibitory herbs-induced ion currents.

Key Words : Cyclic AMP, PKA, Excitatory herbs, Inhibitory herbs, Patch clamp

I. 서 론

음양이론은 한의학에서 인체의 생리나 병리 현상을 설명하는데 없어서는 안될 핵심적인 이론이다. 최근 한의학의 이론이나 임상을 객관화하고 현대화해야 한다는 시대적 흐름에 따라

음양이론에 대해서도 이 같은 방향의 연구가 많이 시도되고 있다.

국내에서는 윤²⁾이 한의학에서의 음양이론을 인체 대사과정과 연결짓고 이화과정과 동화과정을 각각 한의학의 陽化氣, 陰成形의 과정으로 해석한 이래 주로 이러한 관점에서 문헌적, 또는 실험적 연구가 이루어졌다¹⁾³⁾. 국외에서는 주로 중국에서 陰虛, 陽虛證 환자들을 대상으로 면역, 혈액학, 혈류동역학 및 미세 순환, 체내미량원소, 내분비, 자율신경계, 에너지대사

· 교신저자: 김창주, 서울시 동대문구 회기동 경희대학교 의과대학 생리학교실, Tel. 02-961-0407, Fax. 02-964-2195, E-mail: changju@khu.ac.kr

¹이 논문은 1998년도 한국학술진흥재단 학술연구비의 지원에 의하여 이루어졌음.

등의 변화를 측정하여 인체에서의 음양 개념이나 이론을 규명하는 연구가 진행되었다⁴⁾. 이들 연구에서 나타난 비교적 의미 있는 경향으로는 혈장 cyclic adenosine monophosphate (cAMP)와 cyclic guanosine monophosphate (cGMP)의 함량변화와 음양이론을 연결 지어 살펴본 것이다²⁾. 그러나 cAMP와 cGMP는 반드시 모든 조직이나 기관에서 길항적으로 작용하는 것은 아니며 또 cAMP, cGMP 각각의 작용이 장기나 조직에 따라 다르게 나타나기 때문에 연구가 난관에 봉착해 있다.

본 실험에서는 그 동안의 음양이론 연구에서 비교적 소외되었던 뇌의 신경세포를 대상으로 신경세포의 흥분과 억제현상이 음양현상과 유사하다는데 착안하여 이들 현상과 음양이론과의 상관성을 약물을 이용하여 간접적으로 연구를 시도하였다. 즉, 한약을 크게 흥분성과 억제성 약물로 이대별하고 이들 약물이 신경세포막에서 유발하는 이온전류의 특성을 다양한 이온통로와 관련하여 조사함으로써 간접적인 방법으로 한의학에서 생명현상의 설명에 적용해왔던 음양이론에 타당성이 있음을 밝히고, 또 이 과정에서 음양이론을 객관적으로 적정할 수 있는 지표를 찾아보고자 하였다.

신경전달물질에 의한 이온통로의 조절은 GTP-binding protein (G-protein)을 매개로 한 직접조절과 cyclic AMP, Ca^{2+} , diacylglycerol 그리고 NO 등 세포내 이차전령에 의한 간접조절의 두 가지 방법이 있는데 G-protein을 통한 직접조절에는 voltage dependent K^+ channel 과 voltage dependent Ca^{2+} channel 등¹⁵⁾의 조절이 그 예이며, 세포내 이차전령에 의한 이온통로가 조절된다는 실험적 근거도 많이 있는데 protein kinase A나 protein kinase C에 의해 nicotinic acetylcholine receptor가 phosphorylation되면 desensitization이 증가된다고 보고 되었으며⁸⁾ GABA_A receptor의 β -receptor도 phosphorylation되면 그 활성도가 조절된다고 알려져 있다⁶⁾. 또한 μ -type opioid가 활성화되면 glycine에 의한 Cl^- current가 증가되는데 이는 cyclic AMP에 의해 일어난다는 현상이라고

보고되었으¹¹⁾, NMDA receptor에 의한 glutamate 반응도 protein kinase C를 매개로 증가된다고 보고되어 있다⁷⁾.

본 연구에서는 흰쥐 뇌의 단일 신경세포를 분리하여 이차전령인 cyclic AMP-protein kinase system이 억제성 및 흥분성 한약재에 의하여 유발되는 이온전류의 조절에 미치는 영향을 전위고정 하에서 nystatin-perforated patch clamp 방법으로 실험하였다.

II. 실험재료 및 방법

1. 중심회백질 신경세포의 분리

중심회백질 신경세포는 다음과 같은 방법으로 분리하였다¹⁰⁾¹¹⁾. 태어난 지 10일에서 15일 되는 Sprague-Dawley 흰쥐를 Zoletil으로 마취 후 뇌를 꺼내어 microslicer (DSK, model DTK-1000, Japan)를 사용하여 400 μ m 두께로 slices를 만들었다. 중심회백질 (Periaqueductal gray, PAG) 신경세포가 포함된 slice를 1mg/6ml 농도의 pronase로 30-40분간 32°C에서 효소처리 후 이어서 1mg/6ml 농도의 thermolysin으로 동일한 조건으로 10분간 효소처리 하였다. 효소처리 후 slices는 incubation solution에서 5% CO₂-95% O₂ 혼합기체로 1시간 이상 bubbling 한 후 사용하였다.

중심회백질 신경세포 부위는 주사기를 이용하여 micropunching하였으며 standard solution이 들어 있는 culture dish에서 굵기가 다른 micropipette을 이용하여 기계적으로 분리하였다. 이러한 방법으로 분리된 단일 신경세포는 5분내에 culture dish 바닥에 부착되었다.

2. 용액

본 실험에 사용되는 incubation solution의 조성은 다음과 같다. (mM): NaCl 124, KCl 5, KH₂PO₄ 12, MgSO₄ 13, NaHCO₃ 26, 그리고 glucose 10. 이 용액의 pH는 5% CO₂-95% O₂의 혼합 기체로 bubbling 하여 7.4가 유지되게

Cyclic AMP-PKA System이 억제성 및 흥분성 한약재에 의해 유발된 이온전류에 미치는 영향

하였다.

본 실험에 사용되는 standard solution의 조성은 다음과 같다. (mM): NaCl 150, KCl 5, MgCl₂ 1, CaCl₂ 2, glucose 10, 그리고 N-2-hydroxyethyl-piperazine-N'-2-ethanesulfonic acid (HEPES). 이 용액의 pH는 tris-hydroxymethyl-aminomethane (Tris-base)를 이용하여 7.4가 유지되게 하였다.

Patch pipette에 사용되는 internal solution은 (mM) KCl 150, HEPES 10, 그리고 nystatin 200 µg/ml로 구성되어 있으며 internal solution의 pH는 Tris-base를 이용하여 7.2로 유지하였다.

3. 약재

본 실험에 사용된 억제성 한약재로는 시호, 황련, 한련초를 선정하였고, 흥분성 한약재로는 부자, 건강, 육종용 그리고 인삼을 선정하여 사용하였다. 한약재는 시중에서 정선하여 구입하였으며 증류수로 추출한 후 -70°C에서 냉동 보관 후 사용하였다. 실험 시 모든 한약재의 희석은 standard solution을 사용하였다.

이 실험에 사용된 시약은 다음과 같다. Zoletil은 Vibac사 [France] 제품을 구입하였고, pronase, thermolysin, nystatin, forskolin, 3-isobutyl-1-methylxanthine (IBMX), dibutyl cyclic AMP, staurosporin 그리고 그 외 모든 시약은 Sigma사 [USA]를 사용하였다. 약재는 'Y-tube' method로 투여하였으며¹⁰⁾¹¹⁾ 이 방법은 10-20 ms내에 신경세포 주위의 용액을 교체할 수 있다.

4. 전류의 측정

전류의 측정은 nystatin-perforated patch recording 방법을 사용하였으며 patch-pipette은 외경이 1.5 mm인 glass capillaries를 이용하여 two stage puller (PB-7, Narishige, Japan)로 만들었다. 이온전류의 흐름은 patch clamp amplifier (EPC-7, List-Electronic,

Germany)로 측정하였으며, storage oscilloscope (HS-5100A, Iwatsu, Japan)로 관찰하였으며 동시에 thermal-head pen recorder (Nippondenki San-ei, RECTI-HORIZ-8K 21)로 기록하였다.

측정된 값은 means ± standard error of mean (S.E.M)로 계산하였고 Student's *t* test로 통계 처리하였다. 모든 실험은 실온 (20-22°C)에서 진행되었다.

III. 실험 결과

1. 시호에 의하여 유발된 이온전류에 대한 cAMP-PKA system의 조절작용

1) 시호에 의하여 유발된 이온전류의 시간에 따른 변동

시호 (Bupleuri radix) 0.5mg/ml를 처음 중 심회백질 단일 신경세포에 투여 시 기록되는 이온전류를 대조군으로 하여 2분 간격으로 시호를 투여 시 기록되는 이온전류의 크기를 비교하였다. 2분 후에는 처음 투여시의 이온전류 크기의 92.20 ± 7.10% (n=4, p < 0.01)에 해당하는 이온전류가 기록되었고, 4분 뒤에는 98.30 ± 11.03% (n=4, p < 0.05), 6분 뒤에는 99.27 ± 20.44 (n=4, p < 0.05), 8분 뒤에는 88.07 ± 16.12 (n=4, p < 0.05) 그리고 10분 뒤에는 88.30 ± 21.70 (n=4, p > 0.05)에 해당하는 이온전류가 기록되어 시호에 의하여 유발되는 이온전류의 시간에 따른 감소속도가 그리 크지 않았다.

2) cAMP의 증가가 시호에 의하여 유발된 이온전류에 미치는 영향

0.5mg/ml의 시호를 단일신경세포에 투여 시 기록되는 이온전류를 대조군으로 하여 10⁻⁵M forskolin, 10⁻⁴M IBMX, 10⁻⁵M dibutyl cAMP의 mixed solution을 30초 동안 전처치 시 시호에 의하여 나타나는 이온전류의 크기를 2분 간격으로 기록하였다. Mixed solution으로 전

처치 시 시호에 의하여 유발되는 이온전류는 2분 뒤에는 처음 투여시의 $93.03 \pm 1.51\%$ ($n=4$, $p < 0.01$)에 해당하는 이온전류가 기록되었고 4분 뒤에는 $98.93 \pm 1.07\%$ ($n=4$, $p < 0.01$), 6분 뒤에는 $99.23 \pm 5.65\%$ ($n=4$, $p < 0.01$), 8분 뒤에는 $87.77 \pm 10.00\%$ ($n=4$, $p < 0.05$), 10분 뒤에는 $79.30 \pm 10.8\%$ ($n=4$, $p < 0.05$)에 해당하는 이온전류가 기록되었다.

본 실험에서 adenylate cyclase 활성제인 forskolin, phosphodiesterase 억제제인 IBMX 그리고 cyclic AMP analogue인 dibutyl cyclic AMP를 동시에 신경세포에 투여하여 신경세포 내의 cyclic AMP의 농도를 증가시켰을 시 시호에 의하여 유발되는 이온전류의 시간의 경과에 따른 변동은 cAMP에 의하여 크게 영향을 받지 않았다.

3) Protein kinase 억제에 시호에 의하여 유발된 이온전류에 미치는 영향

0.5mg/ml의 시호를 단일신경세포에 투여시 기록되는 이온전류를 대조군으로 하여 $10^{-7}M$ staurosporine을 30초 동안 전처치 시 시호에 의하여 나타나는 이온전류의 크기를 2분 간격으로 기록하였다. Staurosporine으로 전처치 시 시호에 의하여 유발되는 이온전류는 2분 뒤에는 처음 투여시의 $79.00 \pm 10.70\%$ ($n=4$, $p < 0.05$)에 해당하는 이온전류가 기록되었고 4분 뒤에는 $94.90 \pm 13.70\%$ ($n=4$, $p < 0.05$), 6분 뒤에는 $83.40 \pm 3.60\%$ ($n=4$, $p < 0.01$), 8분 뒤에는 $92.50 \pm 2.2\%$ ($n=4$, $p < 0.01$), 10분 뒤에는 $90.90 \pm 1.80\%$ ($n=4$, $p < 0.01$)에 해당하는 이온전류가 기록되었다.

본 실험에서 protein kinase 억제제인 staurosporine을 투여 시 시호에 의한 이온전류는 시간의 경과에 따라 오히려 증가하는 양상을 보였으나 큰 의미는 없는 것으로 사료되었다.

따라서 시호에 의하여 유발되는 이온전류는 cAMP-PKA system에 의하여 크게 영향을 받지 않는 것으로 나타났다 (Figure 1).

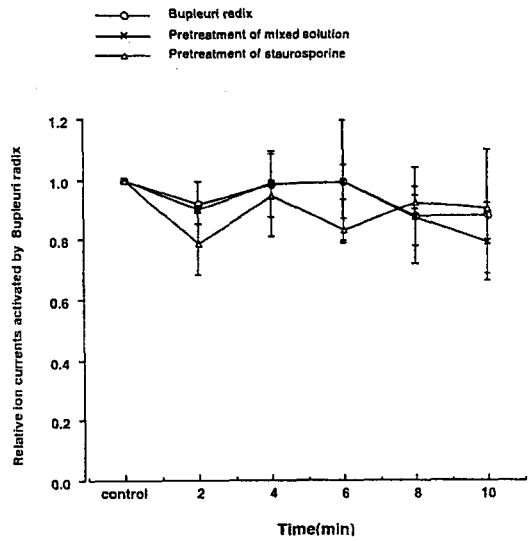


Figure 1. Modulatory effects of cAMP-protein kinase system on ion current activated by Bupleuri radix

2. 황련에 의하여 유발된 이온전류에 대한 cAMP-PKA system의 조절작용

1) 황련에 의하여 유발된 이온전류의 시간에 따른 변동

황련 (Coptidis rhizoma) 0.5mg/ml를 처음 중심회백질 단일 신경세포에 투여 시 기록되는 이온전류를 대조군으로 하여 2분 간격으로 황련을 투여 시 기록되는 이온전류의 크기를 비교하였다. 2분 후에는 처음 투여시의 이온전류 크기의 $91.27 \pm 4.84\%$ ($n=4$, $p < 0.01$)에 해당하는 이온전류가 기록되었고, 4분 뒤에는 $91.97 \pm 6.41\%$ ($n=4$, $p < 0.01$), 6분 뒤에는 90.73 ± 6.27 ($n=4$, $p < 0.01$), 8분 뒤에는 96.00 ± 6.01 ($n=4$, $p < 0.01$) 그리고 10분 뒤에는 93.33 ± 6.53 ($n=4$, $p < 0.01$)에 해당하는 이온전류가 기록되어 황련에 의하여 유발되는 이온전류는 시간에 따라 거의 변화가 없었다.

2) cAMP의 증가가 황련에 의하여 유발된 이온전류에 미치는 영향

0.5mg/ml의 황련을 단일신경세포에 투여 시 기록되는 이온전류를 대조군으로 하여 10^{-5} M forskolin, 10^{-4} M IBMX, 10^{-5} M dibutyl cAMP의 mixed solution을 30초 동안 전처치 시 황련에 의하여 나타나는 이온전류의 크기를 2분 간격으로 기록하였다. Mixed solution으로 전처치 시 황련에 의하여 유발되는 이온전류는 2분 뒤에는 처음 투여시의 $95.04 \pm 5.85\%$ ($n=5$, $p < 0.01$)에 해당하는 이온전류가 기록되었고 4분 뒤에는 $91.62 \pm 5.79\%$ ($n=5$, $p < 0.01$), 6분 뒤에는 $105.62 \pm 9.17\%$ ($n=5$, $p < 0.01$), 8분 뒤에는 $97.70 \pm 7.98\%$ ($n=5$, $p < 0.05$), 10분 뒤에는 $88.02 \pm 10.54\%$ ($n=5$, $p < 0.01$)에 해당하는 이온전류가 기록되었다.

본 실험에서 adenylate cyclase 활성화제인 forskolin, phosphodiesterase 억제제인 IBMX 그리고 cyclic AMP analogue인 dibutyl cyclic AMP를 동시에 신경세포에 투여하여 신경세포 내의 cyclic AMP의 농도를 증가시켰을 시 황련에 의하여 유발되는 이온전류의 시간의 경과에 따른 변동은 cAMP에 의하여 크게 영향을 받지 않았다.

3) Protein kinase 억제가 황련에 의하여 유발된 이온전류에 미치는 영향

0.5mg/ml의 황련을 단일신경세포에 투여 시 기록되는 이온전류를 대조군으로 하여 10^{-7} M staurosporine을 30초 동안 전처치 시 황련에 의하여 나타나는 이온전류의 크기를 2분 간격으로 기록하였다. Staurosporine으로 전처치 시 황련에 의하여 유발되는 이온전류는 2분 뒤에는 처음 투여시의 $97.05 \pm 4.20\%$ ($n=4$, $p < 0.05$)에 해당하는 이온전류가 기록되었고 4분 뒤에는 $107.90 \pm 7.10\%$ ($n=4$, $p < 0.05$), 6분 뒤에는 $105.35 \pm 8.30\%$ ($n=4$, $p < 0.05$), 8분 뒤에는 $96.15 \pm 12.30\%$ ($n=4$, $p < 0.05$), 10분 뒤에는 $97.80 \pm 18.30\%$ ($n=4$, $p < 0.05$)에 해당하는 이온전류가 기록되었다.

본 실험에서 protein kinase 억제제인 staurosporine을 투여 시 황련에 의한 이온전류는 시간의 경과에 따라 처음에는 증가하는 양상을 보였으나 곧 대조군과 유사한 이온전류를 나타내어 큰 의미는 없는 것으로 사료되었다.

따라서 황련에 의하여 유발되는 이온전류는 cAMP-PKA system에 의하여 크게 영향을 받지 않는 것으로 나타났다 (Figure 2).

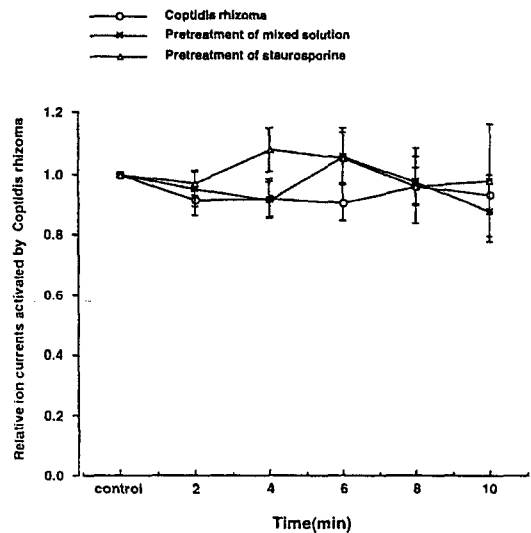


Figure 2. Modulatory effects of cAMP-protein kinase system on ion current activated by Coptidis rhizoma

3. 한련초에 의하여 유발된 이온전류에 대한 cAMP-PKA system의 조절작용

1) 한련초에 의하여 유발된 이온전류의 시간에 따른 변동

한련초 (Ecliptae herba) 0.5mg/ml를 처음 중심회백질 단일 신경세포에 투여 시 기록되는 이온전류를 대조군으로 하여 2분 간격으로 한련초를 투여 시 기록되는 이온전류의 크기를 비교하였다. 2분 후에는 처음 투여시의 이온전류 크기의 $91.30 \pm 3.14\%$ ($n=4$, $p < 0.01$)에 해당하는 이온전류가 기록되었고, 4분 뒤에는

108.20±20.50% (n=5, p <0.01), 6분 뒤에는 75.15±8.66 (n=4, p <0.01), 8분 뒤에는 73.90±6.20 (n=5, p <0.01) 그리고 10분 뒤에는 73.80±2.16 (n=4, p <0.05)에 해당하는 이온전류가 기록되어 한련초에 의하여 유발되는 이온전류는 6분 뒤에는 급격히 감소되었다.

2) cAMP의 증가가 한련초에 의하여 유발된 이온전류에 미치는 영향

0.5mg/ml의 한련초를 단일신경세포에 투여 시 기록되는 이온전류를 대조군으로 하여 10⁻⁵M forskolin, 10⁻⁴M IBMX, 10⁻⁵M dibutyl cAMP의 mixed solution을 30초 동안 전처치 시 한련초에 의하여 나타나는 이온전류의 크기를 2분 간격으로 기록하였다. Mixed solution으로 전처치 시 한련초에 의하여 유발되는 이온전류는 2분 뒤에는 처음 투여시의 76.57±6.62% (n=4, p <0.01)에 해당하는 이온전류가 기록되었고 4분 뒤에는 79.20±4.86% (n=5, p <0.01), 6분 뒤에는 69.80±4.43% (n=5, p <0.01), 8분 뒤에는 61.97±2.52% (n=4, p <0.05), 10분 뒤에는 49.60±4.36% (n=5, p <0.01)에 해당하는 이온전류가 기록되었다.

본 실험에서 adenylate cyclase 활성제인 forskolin, phosphodiesterase 억제제인 IBMX 그리고 cyclic AMP analogue인 dibutyl cyclic AMP를 동시에 신경세포에 투여하여 신경세포 내의 cyclic AMP의 농도를 증가시켰을 시 한련초에 의하여 유발되는 이온전류는 시간의 경과에 따라 급격히 감소되었다.

3) Protein kinase 억제가 한련초에 의하여 유발된 이온전류에 미치는 영향

0.5mg/ml의 한련초를 단일신경세포에 투여 시 기록되는 이온전류를 대조군으로 하여 10⁻⁷M staurosporine을 30초 동안 전처치 시 한련초에 의하여 나타나는 이온전류의 크기를 2분 간격으로 기록하였다. Staurosporine으로 전처치 시 한련초에 의하여 유발되는 이온전류는 2분 뒤에는 처음 투여시의 91.93±1.81% (n=8, p <0.01)에 해당하는 이온전류가 기록되

었고 4분 뒤에는 93.12±2.75% (n=8, p <0.01), 6분 뒤에는 87.71±2.97% (n=8, p <0.01), 8분 뒤에는 83.49±4.15% (n=8, p <0.01), 10분 뒤에는 78.16±6.76% (n=8; p <0.05)에 해당하는 이온전류가 기록되었다.

본 실험에서 protein kinase 억제제인 staurosporine을 투여 시 한련초에 의한 이온전류는 처음에는 별 영향을 주지 못하다가 시간의 경과에 따라 이온전류의 감소를 억제시켰다.

따라서 한련초에 의하여 유발되는 이온전류는 cAMP에 의하여 감소되었고 staurosporine에 의하여 감소가 억제되어 cAMP-PKA system에 의하여 일부 억제적으로 조절되는 양상을 나타내었다 (Figure 3).

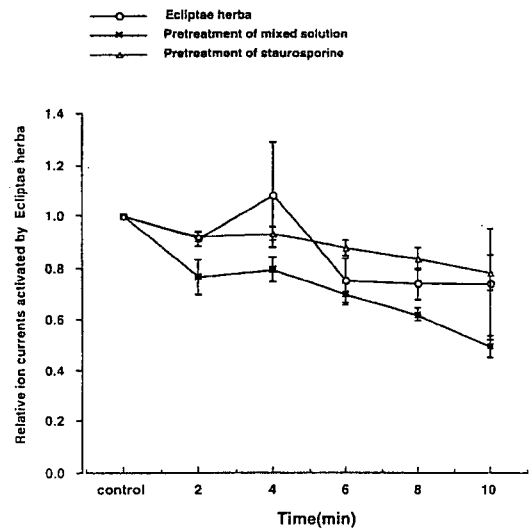


Figure 3. Modulatory effects of cAMP-protein kinase system on ion current activated by Ecliptae herba

4. 부자에 의하여 유발된 이온전류에 대한 cAMP-PKA system의 조절작용

1) 부자에 의하여 유발된 이온전류의 시간에 따른 변동

부자 (Aconiti tuber) 0.5mg/ml를 처음 중심

회백질 단일 신경세포에 투여 시 기록되는 이온전류를 대조군으로 하여 2분 간격으로 부자를 투여 시 기록되는 이온전류의 크기를 비교하였다. 2분 후에는 처음 투여시의 이온전류 크기의 $93.10 \pm 7.24\%$ ($n=4$, $p < 0.01$)에 해당하는 이온전류가 기록되었고, 4분 뒤에는 $96.33 \pm 5.38\%$ ($n=4$, $p < 0.01$), 6분 뒤에는 95.97 ± 6.45 ($n=4$, $p < 0.01$), 8분 뒤에는 95.92 ± 9.33 ($n=4$, $p < 0.01$) 그리고 10분 뒤에는 89.97 ± 10.74 ($n=4$, $p < 0.01$)에 해당하는 이온전류가 기록되어 부자에 의하여 유발되는 이온전류는 시간에 따라 크게 변동이 없었다.

2) cAMP의 증가가 부자에 의하여 유발된 이온전류에 미치는 영향

0.5mg/ml의 부자를 단일신경세포에 투여 시 기록되는 이온전류를 대조군으로 하여 $10^{-5}M$ forskolin, $10^{-4}M$ IBMX, $10^{-5}M$ dibutyl cAMP의 mixed solution을 30초 동안 전처치 시 부자에 의하여 나타나는 이온전류의 크기를 2분 간격으로 기록하였다. Mixed solution으로 전처치 시 부자에 의하여 유발되는 이온전류는 2분 뒤에는 처음 투여시의 $90.55 \pm 2.74\%$ ($n=6$, $p < 0.01$)에 해당하는 이온전류가 기록되었고 4분 뒤에는 $89.60 \pm 4.40\%$ ($n=6$, $p < 0.01$), 6분 뒤에는 $79.30 \pm 4.89\%$ ($n=6$, $p < 0.01$), 8분 뒤에는 $76.37 \pm 7.91\%$ ($n=6$, $p < 0.01$), 10분 뒤에는 $71.40 \pm 10.60\%$ ($n=5$, $p < 0.01$)에 해당하는 이온전류가 기록되었다.

본 실험에서 adenylate cyclase 활성제인 forskolin, phosphodiesterase 억제제인 IBMX 그리고 cyclic AMP analogue인 dibutyl cyclic AMP를 동시에 신경세포에 투여하여 신경세포 내의 cyclic AMP의 농도를 증가시켰을 시 부자에 의하여 유발되는 이온전류는 시간의 경과에 따라 급격히 감소되었다.

3) Protein kinase 억제가 부자에 의하여 유발된 이온전류에 미치는 영향

0.5mg/ml의 부자를 단일신경세포에 투여 시 기록되는 이온전류를 대조군으로 하여 $10^{-7}M$

staurosporine을 30초 동안 전처치 시 부자에 의하여 나타나는 이온전류의 크기를 2분 간격으로 기록하였다. Staurosporine으로 전처치 시 부자에 의하여 유발되는 이온전류는 2분 뒤에는 처음 투여시의 $110.05 \pm 4.15\%$ ($n=4$, $p < 0.05$)에 해당하는 이온전류가 기록되었고 4분 뒤에는 $104.00 \pm 4.50\%$ ($n=4$, $p < 0.05$), 6분 뒤에는 $124.00 \pm 15.20\%$ ($n=4$, $p < 0.05$), 8분 뒤에는 $119.70 \pm 19.70\%$ ($n=4$, $p < 0.05$), 10분 뒤에는 $118.50 \pm 24.40\%$ ($n=8$, $p > 0.05$)에 해당하는 이온전류가 기록되었다.

본 실험에서 protein kinase 억제제인 staurosporine을 투여 시 부자에 의한 이온전류의 시간 경과에 따른 감소가 거의 나타나지 않았다.

따라서 부자에 의하여 유발되는 이온전류는 cAMP에 의하여 감소되었으며 staurosporine에 의하여서는 증가되어 cAMP-PKA system에 의하여 억제적으로 조절됨을 나타내었다 (Figure 4).

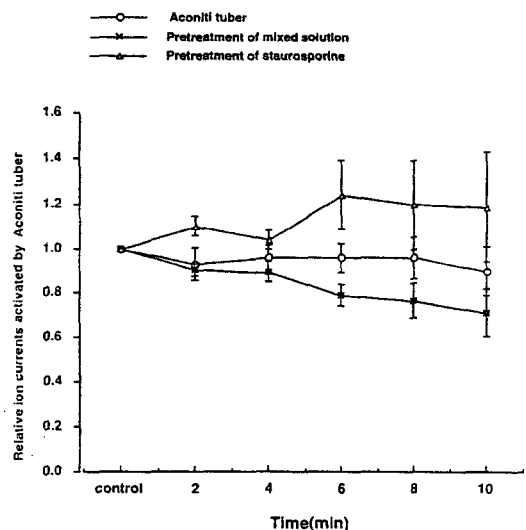


Figure 4. Modulatory effects of cAMP-protein kinase system on ion current activated by Aconiti tuber

5. 건강에 의하여 유발된 이온전류에 대한 cAMP-PKA system의 조절작용

1) 건강에 의하여 유발된 이온전류의 시간에 따른 변동

건강 (*Zingiberis rhizoma*) 0.3mg/ml를 처음 중심화백질 단일 신경세포에 투여 시 기록되는 이온전류를 대조군으로 하여 2분 간격으로 건강을 투여 시 기록되는 이온전류의 크기를 비교하였다. 2분 후에는 처음 투여시의 이온전류 크기의 $92.28 \pm 2.98\%$ ($n=6$, $p < 0.01$)에 해당하는 이온전류가 기록되었고, 4분 뒤에는 $90.93 \pm 3.32\%$ ($n=6$, $p < 0.01$), 6분 뒤에는 79.08 ± 6.91 ($n=6$, $p < 0.01$), 8분 뒤에는 72.87 ± 9.70 ($n=6$, $p < 0.01$) 그리고 10분 뒤에는 68.10 ± 11.30 ($n=6$, $p < 0.01$)에 해당하는 이온전류가 기록되어 건강에 의하여 유발되는 이온전류는 시간이 지남에 따라 크게 감소되었다.

2) cAMP의 증가가 건강에 의하여 유발된 이온전류에 미치는 영향

0.3mg/ml의 건강을 단일신경세포에 투여 시 기록되는 이온전류를 대조군으로 하여 $10^{-5}M$ forskolin, $10^{-4}M$ IBMX, $10^{-5}M$ dibutyl cAMP의 mixed solution을 30초 동안 전처리 시 건강에 의하여 나타나는 이온전류의 크기를 2분 간격으로 기록하였다. Mixed solution으로 전처리 시 건강에 의하여 유발되는 이온전류는 2분 뒤에는 처음 투여시의 $87.27 \pm 3.75\%$ ($n=4$, $p < 0.01$)에 해당하는 이온전류가 기록되었고 4분 뒤에는 $91.75 \pm 6.14\%$ ($n=4$, $p < 0.01$), 6분 뒤에는 $84.70 \pm 9.97\%$ ($n=4$, $p < 0.01$), 8분 뒤에는 $94.55 \pm 24.23\%$ ($n=6$, $p < 0.05$), 10분 뒤에는 $94.40 \pm 27.2\%$ ($n=4$, $p < 0.05$)에 해당하는 이온전류가 기록되었다.

본 실험에서 adenylate cyclase 활성제인 forskolin, phosphodiesterase 억제제인 IBMX 그리고 cyclic AMP analogue인 dibutyl cyclic AMP를 동시에 신경세포에 투여하여 신경세포 내의 cyclic AMP의 농도를 증가 시켰을 시 건

강에 의하여 유발되는 이온전류는 시간의 경과에 따라 감소가 억제되었다.

3) Protein kinase 억제가 건강에 의하여 유발된 이온전류에 미치는 영향

0.3mg/ml의 건강을 단일신경세포에 투여 시 기록되는 이온전류를 대조군으로 하여 $10^{-7}M$ staurosporine을 30초 동안 전처리 시 건강에 의하여 나타나는 이온전류의 크기를 2분 간격으로 기록하였다. Staurosporine으로 전처리 시 건강에 의하여 유발되는 이온전류는 2분 뒤에는 처음 투여시의 $100.00 \pm 0.00\%$ ($n=4$, $p < 0.01$)에 해당하는 이온전류가 기록되었고 4분 뒤에는 $91.80 \pm 2.72\%$ ($n=4$, $p < 0.01$), 6분 뒤에는 $90.47 \pm 2.98\%$ ($n=4$, $p < 0.01$), 8분 뒤에는 $78.50 \pm 9.72\%$ ($n=4$, $p < 0.05$), 10분 뒤에는 $61.40 \pm 12.96\%$ ($n=4$, $p < 0.05$)에 해당하는 이온전류가 기록되었다.

본 실험에서 protein kinase 억제제인 staurosporine을 투여 시 건강에 의한 이온전류의 시간 경과에 따른 감소가 급격히 증가하였다.

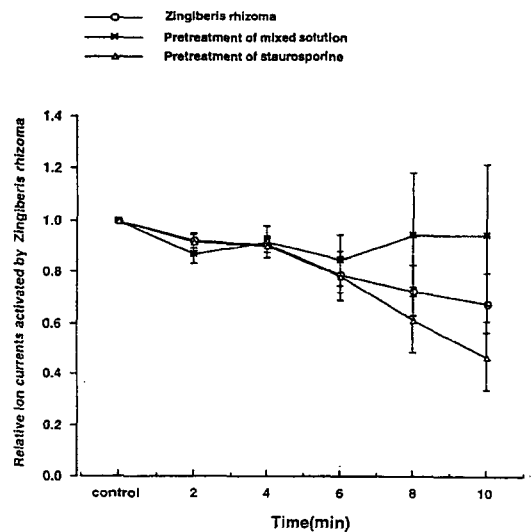


Figure 5. Modulatory effects of cAMP-protein kinase system on ion current activated by *Zingiberis rhizoma*

따라서 건강에 의하여 유발되는 이온전류는 cAMP에 의하여 증가되었으며 staurosporine에 의하여서는 감소되어 cAMP-PKA system에 의하여 촉진적으로 조절됨을 나타내었다 (Figure 5).

6. 육종용에 의하여 유발된 이온전류에 대한 cAMP-PKA system의 조절작용

1) 육종용에 의하여 유발된 이온전류의 시간에 따른 변동

육종용 (Bosniakia herba) 1g/ml를 처음 중심회백질 단일 신경세포에 투여 시 기록되는 이온전류를 대조군으로 하여 2분 간격으로 육종용을 투여 시 기록되는 이온전류의 크기를 비교하였다. 2분 후에는 처음 투여시의 이온전류 크기의 $105.43 \pm 7.36\%$ ($n=4$, $p < 0.01$)에 해당하는 이온전류가 기록되었고, 4분 뒤에는 $99.63 \pm 6.09\%$ ($n=4$, $p < 0.01$), 6분 뒤에는 95.50 ± 12.29 ($n=4$, $p < 0.05$), 8분 뒤에는 77.23 ± 11.39 ($n=4$, $p < 0.05$) 그리고 10분 뒤에는 74.33 ± 18.22 ($n=4$, $p > 0.05$)에 해당하는 이온전류가 기록되어 육종용에 의하여 유발되는 이온전류는 시간이 지남에 따라 크게 감소되었다.

2) cAMP의 증가가 육종용에 의하여 유발된 이온전류에 미치는 영향

1mg/ml의 육종용을 단일신경세포에 투여 시 기록되는 이온전류를 대조군으로 하여 $10^{-5}M$ forskolin, $10^{-4}M$ IBMX, $10^{-5}M$ dibutyl cAMP의 mixed solution을 30초 동안 전처리 시 육종용에 의하여 나타나는 이온전류의 크기를 2분 간격으로 기록하였다. Mixed solution으로 전처리 시 육종용에 의하여 유발되는 이온전류는 2분 뒤에는 처음 투여시의 $84.03 \pm 3.49\%$ ($n=6$, $p < 0.01$)에 해당하는 이온전류가 기록되었고 4분 뒤에는 $87.50 \pm 3.47\%$ ($n=6$, $p < 0.01$), 6분 뒤에는 $84.32 \pm 5.44\%$ ($n=6$, $p < 0.01$), 8분 뒤에는 $71.98 \pm 5.63\%$ ($n=6$, p

< 0.01), 10분 뒤에는 $67.13 \pm 7.52\%$ ($n=6$, $p < 0.01$)에 해당하는 이온전류가 기록되었다.

본 실험에서 adenylate cyclase 활성제인 forskolin, phosphodiesterase 억제제인 IBMX 그리고 cyclic AMP analogue인 dibutyl cyclic AMP를 동시에 신경세포에 투여하여 신경세포 내의 cyclic AMP의 농도를 증가시켰을 시 육종용에 의하여 유발되는 이온전류의 시간의 경과에 따라 감소가 더욱 촉진되었다.

3) Protein kinase 억제제가 육종용에 의하여 유발된 이온전류에 미치는 영향

1mg/ml의 육종용을 단일신경세포에 투여 시 기록되는 이온전류를 대조군으로 하여 $10^{-7}M$ staurosporine을 30초 동안 전처리 시 육종용에 의하여 나타나는 이온전류의 크기를 2분 간격으로 기록하였다. Staurosporine으로 전처리 시 육종용에 의하여 유발되는 이온전류는 2분 뒤에는 처음 투여시의 $108.30 \pm 15.00\%$ ($n=4$, $p < 0.05$)에 해당하는 이온전류가 기록되었고 4분 뒤에는 $113.10 \pm 24.50\%$ ($n=4$, $p < 0.05$), 6분 뒤에는 $108.90 \pm 27.30\%$ ($n=4$, $p > 0.01$), 8분 뒤에는 $90.90 \pm 20.20\%$ ($n=4$, $p < 0.05$), 10분 뒤에는 $77.30 \pm 4.00\%$ ($n=4$, $p < 0.05$)에 해당하는 이온전류가 기록되었다.

본 실험에서 protein kinase 억제제인 staurosporine을 투여 시 육종용에 의한 이온전류의 시간 경과에 따른 감소가 급격히 억제되었다.

따라서 육종용에 의하여 유발되는 이온전류는 cAMP에 의하여 감소되었으며 staurosporine에 의하여서는 증가되어 cAMP-PKA system에 의하여 억제적으로 조절됨을 나타내었다 (Figure 6).

7. 인삼에 의하여 유발된 이온전류에 대한 cAMP-PKA system의 조절작용

1) 인삼에 의하여 유발된 이온전류의 시간에 따른 변동

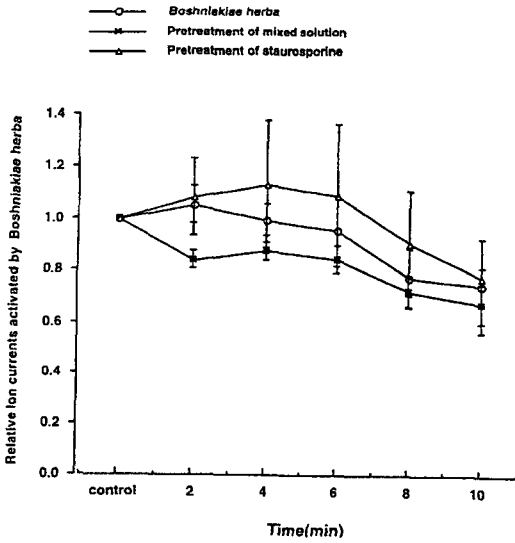


Figure 6. Modulatory effects of cAMP-protein kinase system on ion current activated by Boshniakiae herba

인삼 (Ginseng radix) 0.3g/ml를 처음 중심 회백질 단일 신경세포에 투여 시 기록되는 이온전류를 대조군으로 하여 2분 간격으로 인삼을 투여 시 기록되는 이온전류의 크기를 비교하였다. 2분 후에는 처음 투여시의 이온전류 크기의 $93.53 \pm 6.69\%$ ($n=4$, $p < 0.01$)에 해당하는 이온전류가 기록되었고, 4분 뒤에는 $90.20 \pm 8.48\%$ ($n=4$, $p < 0.01$), 6분 뒤에는 80.40 ± 13.30 ($n=4$, $p < 0.05$), 8분 뒤에는 68.40 ± 19.30 ($n=4$, $p > 0.05$) 그리고 10분 뒤에는 65.20 ± 26.20 ($n=4$, $p > 0.05$)에 해당하는 이온전류가 기록되어 인삼에 의하여 유발되는 이온전류는 시간이 지남에 따라 급격히 감소되었다.

2) cAMP의 증가가 인삼에 의하여 유발된 이온전류에 미치는 영향

0.3mg/ml의 인삼을 단일신경세포에 투여 시 기록되는 이온전류를 대조군으로 하여 $10^{-5}M$ forskolin, $10^{-4}M$ IBMX, $10^{-5}M$ dibutyl cAMP의 mixed solution을 30초 동안 전처리 시 인삼에 의하여 나타나는 이온전류의 크기를 2분

간격으로 기록하였다. Mixed solution으로 전처리 시 육종용에 의하여 유발되는 이온전류는 2분 뒤에는 처음 투여시의 $85.77 \pm 3.76\%$ ($n=4$, $p < 0.01$)에 해당하는 이온전류가 기록되었고 4분 뒤에는 $89.35 \pm 3.56\%$ ($n=4$, $p < 0.01$), 6분 뒤에는 $95.07 \pm 8.50\%$ ($n=4$, $p < 0.01$), 8분 뒤에는 $97.57 \pm 14.26\%$ ($n=4$, $p < 0.01$), 10분 뒤에는 $87.10 \pm 15.00\%$ ($n=4$, $p < 0.05$)에 해당하는 이온전류가 기록되었다.

본 실험에서 adenylate cyclase 활성제인 forskolin, phosphodiesterase 억제제인 IBMX 그리고 cyclic AMP analogue인 dibutyl cyclic AMP를 동시에 신경세포에 투여하여 신경세포 내의 cyclic AMP의 농도를 증가시켰을 시 인삼에 의하여 유발되는 이온전류의 시간의 경과에 따라 감소가 초반에는 촉진되었으나 후반에는 억제되었다.

3) Protein kinase 억제제가 인삼에 의하여 유발된 이온전류에 미치는 영향

0.3mg/ml의 인삼을 단일신경세포에 투여 시 기록되는 이온전류를 대조군으로 하여 $10^{-7}M$ staurosporine을 30초 동안 전처리 시 육종용에 의하여 나타나는 이온전류의 크기를 2분 간격으로 기록하였다. Staurosporine으로 전처리 시 인삼에 의하여 유발되는 이온전류는 2분 뒤에는 처음 투여시의 $90.10 \pm 5.13\%$ ($n=4$, $p < 0.01$)에 해당하는 이온전류가 기록되었고 4분 뒤에는 $89.65 \pm 8.64\%$ ($n=4$, $p < 0.01$), 6분 뒤에는 $81.05 \pm 11.17\%$ ($n=4$, $p < 0.01$), 8분 뒤에는 $77.38 \pm 12.79\%$ ($n=4$, $p < 0.01$), 10분 뒤에는 $76.97 \pm 11.48\%$ ($n=4$, $p < 0.01$)에 해당하는 이온전류가 기록되었다.

본 실험에서 protein kinase 억제제인 staurosporine을 투여 시 인삼에 의한 이온전류의 시간 경과에 따른 감소가 초반에는 촉진되었으나 후반에는 억제되었다.

따라서 인삼에 의하여 유발되는 이온전류는 cAMP에 의하여 초반에는 억제되었고 후반에는 촉진되는 양상을 보였으나 staurosporine에 의하여서도 초반에는 억제되고 후반에는 증가

되는 모순되는 양상을 보여 cAMP-PKA system에 의하여 조절되지 않음을 나타내었다 (Figure 7).

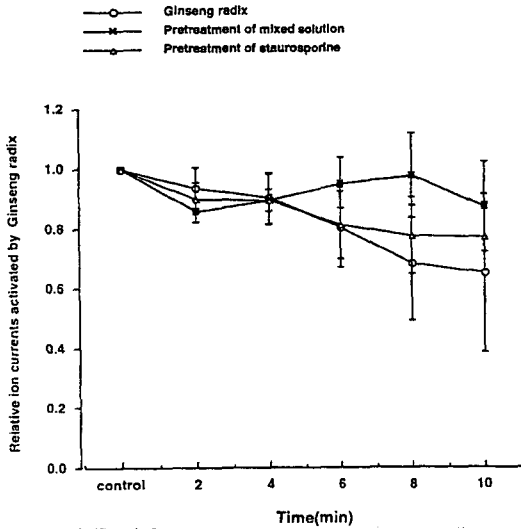


Figure 7. Modulatory effects of cAMP-protein kinase system on ion current activated by Ginseng radix

IV. 고찰

Cyclic AMP는 protein kinase를 활성화시켜 이온통로의 활성도를 조절하게 되는데⁵⁾¹³⁾¹⁴⁾ 억제성 및 흥분성 한약재에 의하여 활성화되는 이온통로에 대한 cyclic AMP의 조절 작용을 보기 위하여 $10^{-5}M$ 의 adenylate cyclase 활성제인 forskolin, $10^{-4}M$ 의 phosphodiesterase 억제제인 IBMX, $10^{-5}M$ 의 cyclic AMP analogue인 dibutyl cAMP를 동시에 (mixed solution) 신경세포에 투여하여 세포내 cyclic AMP의 농도를 증가시켰을 때 시호에 의하여 유발되는 이온전류의 시간의 경과에 따른 변동은 cAMP에 의하여 크게 영향을 받지 않았으며, 황련에 의하여 유발되는 이온전류도 cAMP에 의하여 크게 영향을 받지 않았으나 cAMP의 농도를 증가시켰을 시 한련초에 의하여 유발되는 이온전류는 시간의 경과에 따라 급격히 감소되었

다.

또한 cyclic AMP의 농도를 증가시켰을 시 부자에 의하여 유발되는 이온전류는 시간의 경과에 따라 급격히 감소되었으며 건강에 의하여 유발되는 이온전류는 시간의 경과에 따라 감소가 억제되었고 육종용에 의하여 유발되는 이온전류의 시간의 경과에 따라 감소가 더욱 촉진된 반면 인삼에 의하여 유발되는 이온전류의 시간의 경과에 따라 감소가 초반에는 촉진되었으나 후반에는 억제되었다.

이는 Cyclic AMP에 의하여 protein kinase가 활성화되어 여러 한약재에 의하여 활성화되는 이온통로가 인산화 되면 그 이온통로의 활성도가 변화함을 의미한다.

또한 $10^{-7}M$ 농도의 protein kinase 억제제인 staurosporine을 신경세포에 투여하여 세포내 cyclic AMP의 인산화 작용을 억제시켰을 때 억제성 및 흥분성 한약재에 의하여 활성화되는 이온통로의 활성도를 측정하였다.

Staurosporine을 투여 시 시호에 의한 이온전류는 시간의 경과에 따라 오히려 증가하는 양상을 보였으나 큰 의미는 없는 것으로 사료되었으며 staurosporine을 투여 시 황련에 의한 이온전류도 시간의 경과에 따라 처음에는 증가하는 양상을 보였으나 곧 대조군과 유사한 이온전류를 나타내어 큰 의미는 없는 것으로 나타났다. 또한 한련초에 의한 이온전류는 처음에는 별 영향을 주지 못하다가 시간의 경과에 따라 이온전류의 감소를 억제시켰다.

또한 staurosporine을 투여 시 부자에 의한 이온전류의 시간 경과에 따른 감소가 거의 나타나지 않았으며 건강에 의한 이온전류의 시간 경과에 따른 감소는 급격히 증가한 반면 육종용에 의한 이온전류의 시간 경과에 따른 감소가 급격히 억제되었고 인삼에 의한 이온전류의 시간 경과에 따른 감소는 초반에는 촉진되었으나 후반에는 억제되었다.

이는 cyclic AMP 의존성 protein kinase에 의한 이온통로의 인산화 작용이 staurosporine에 의하여 억제됨으로써 여러 한약재에 의하여 활성화되는 이온통로의 작용이 서로 다르게 조

절됨을 의미한다.

Cyclic AMP-protein kinase system에 의하여 이온통로가 인산화 되면 이온통로의 활성도가 감소된다는 많은 보고가 있다⁵⁾¹¹⁾¹²⁾¹³⁾. 즉 Porter 등은 포유동물의 뇌에 존재하는 가장 중요한 억제성 신경전달물질인 GABA는 chloride ion channel을 형성하는 GABA_A receptor에 결합하는데 GABA가 결합하는 GABA_A receptor는 cAMP-dependent protein kinase에 의하여 phosphorylation되면 channel opening frequency가 감소되어 GABA receptor 반응이 감소된다¹³⁾고 보고하였으며, Agopyan 등은 rat의 ventromedial hypothalamic neurons에서 cyclic AMP는 GABA와 glycine에 의한 chloride current를 감소시키는데 이는 protein kinase A를 매개로 한 인산화 작용에 의한 것이라고 하였다⁵⁾. 또한 opioid의 glycine에 대한 조절작용에서도 DAGO는 glycine에 의한 chloride current를 증가시켰으며 cAMP-protein kinase A는 반대로 chloride current를 억제한다고 보고하여 chloride current가 인산화 되면 이온통로의 활성도가 감소됨을 주장하였다¹¹⁾. Noradrenaline은 rat의 sacral dorsal commissural nucleus의 glycine response를 증가시키는데, noradrenaline에 의하여 α 2-adrenoceptor가 활성화되면 pertussis toxin-sensitive G-protein을 매개로 adenylate cyclase가 억제되어 cAMP의 생성이 감소되고 이것은 protein kinase A의 활성도를 감소시켜 glycine에 의한 Cl⁻ current를 증가시킨다고 하여 이온통로가 인산화 되지 않으면 이온통로의 활성도가 증가한다고 보고하였다¹²⁾.

그러나 Ren 등은 쥐의 ventral tegmental area에서 cAMP-dependent protein kinase A는 glycine activated Cl⁻ current를 조절하는데 PKA activator인 8-br-cAMP는 I_{Gly} 를 증가시키는 반면 PKA inhibitor인 H-89는 I_{Gly} 를 억제시켰다고 보고하여 cAMP 의하여 glycine 이온통로가 인산화 되면 glycine 반응이 증가된다고 주장하여 다른 결과를 보고하였다¹⁴⁾.

또한 포유동물의 내이 hair cell의 fast activating potassium current는 protein kinase A의 조절을 받는데 PKA 활성제인 8-bromo-cAMP는 outwardly rectifying current의 amplitude를 증가시키고 PKA 억제제인 H-89에 의하여 감소되었다고 보고됨으로써⁹⁾ 대부분의 연구에서 많은 이온통로가 cAMP-protein kinase A에 의하여 조절된다고는 보고되었으나 그 결과에 대해서는 아직도 상반된 결과들이 주장되고 있다.

본 실험에서 억제성 한약재에 의하여 활성화되는 이온통로의 cAMP-PKA system의 조절작용을 보면 시호에 의하여 유발되는 이온전류는 cAMP-PKA system에 의하여 크게 영향을 받지 않는 것으로 나타났으며 황련에 의하여 유발되는 이온전류도 cAMP-PKA system에 의하여 크게 영향을 받지 않는 것으로 나타났다. 한련초에 의하여 유발되는 이온전류는 cAMP에 의하여 감소되었고 staurosporine에 의하여 감소가 억제되어 cAMP-PKA system에 의하여 일부 억제적으로 조절되는 양상을 나타내었다.

홍분성 한약재에 의하여 활성화되는 이온통로의 cAMP-PKA system의 조절작용을 보면 부자에 의하여 유발되는 이온전류는 cAMP에 의하여 감소되었으며 staurosporine에 의해 증가되어 cAMP-PKA system에 의하여 억제적으로 조절됨을 나타내었고 건강에 의하여 유발되는 이온전류는 cAMP에 의해 증가되었으며 staurosporine에 의해서는 감소되어 cAMP-PKA system에 의하여 촉진적으로 조절됨을 나타내었다. 육종용에 의하여 유발되는 이온전류는 cAMP에 의하여 감소되었으며 staurosporine에 의하여서는 증가되어 cAMP-PKA system에 의하여 억제적으로 조절됨을 나타낸 반면 인삼에 의해 유발되는 이온전류는 cAMP에 의하여 초반에는 억제되었고 후반에는 촉진되는 양상을 보였으나 staurosporine에 의하여서도 초반에는 억제되고 후반에는 증가되는 모순되는 양상을 보여 cAMP-PKA system에 의하여 조절되지 않음을 나타내었다.

본 실험에서 한약재는 많은 성분이 포함되어

있으므로 따라서 한약재에 의하여 활성화되는 이온통로는 복합적이고 따라서 cAMP-protein kinase A에 의한 조절작용도 매우 다양하게 나타날 것이므로 mixed solution에 의한 이온통로의 인산화 작용과 staurosporine에 의한 탈인산화 작용의 실험결과가 확연히 나타나지 않음은 당연한 결과라 할 것이다.

그러나 전반적으로 억제성 한약재에 의하여 활성화되는 이온통로는 cAMP-PKA system에 의하여 조절되지 않는 반면 흥분성 한약재에 의하여 활성화되는 이온통로는 일반적으로 cAMP-PKA system에 의하여 조절되는 양상을 보였다.

V. 결 론

억제성 및 흥분성 한약재에 의하여 활성화되는 이온통로에 대한 cyclic AMP의 조절 작용을 흰쥐 뇌의 단일 신경세포를 분리하여 전위 고정 하에서 nystatin-perforated patch clamp로 연구하였다.

본 실험에서 억제성 한약재에 의하여 활성화되는 이온통로의 cAMP-PKA system의 조절작용을 보면 시호에 의하여 유발되는 이온전류는 cAMP-PKA system에 의하여 크게 영향을 받지 않는 것으로 나타났으며 황련에 의하여 유발되는 이온전류도 cAMP-PKA system에 의하여 크게 영향을 받지 않는 것으로 나타났다. 한련초에 의하여 유발되는 이온전류는 cAMP에 의하여 감소되었고 staurosporine에 의하여 감소가 억제되어 cAMP-PKA system에 의하여 일부 억제적으로 조절되는 양상을 나타내었다.

흥분성 한약재에 의하여 활성화되는 이온통로의 cAMP-PKA system의 조절작용을 보면 부자에 의하여 유발되는 이온전류는 cAMP에 의하여 감소되었으며 staurosporine에 의해 증가되어 cAMP-PKA system에 의하여 억제적으로 조절됨을 나타내었고 건강에 의하여 유발되는 이온전류는 cAMP에 의해 증가되었으며 staurosporine에 의해서는 감소되어 cAMP-PKA system에 의하여 촉진적으로 조절됨을

나타내었다. 육종용에 의하여 유발되는 이온전류는 cAMP에 의하여 감소되었으며 staurosporine에 의하여서는 증가되어 cAMP-PKA system에 의하여 억제적으로 조절됨을 나타낸 반면 인삼에 의해 유발되는 이온전류는 cAMP에 의하여 초반에는 억제되었고 후반에는 촉진되는 양상을 보였으나 staurosporine에 의하여서도 초반에는 억제되고 후반에는 증가되는 모순되는 양상을 보여 cAMP-PKA system에 의하여 조절되지 않음을 나타내었다.

본 실험에서 전반적으로 억제성 한약재에 의하여 활성화되는 이온통로는 cAMP-PKA system에 의하여 조절되지 않는 반면 흥분성 한약재에 의하여 활성화되는 이온통로는 일반적으로 cAMP-PKA system에 의하여 조절되는 양상을 보였다.

참고문헌

1. 김원중, 김완희: 혈액학적 지표를 이용한 기아상태의 음양론적 해석에 대한 실험적 연구, 동의생리학회지 6(1):41-58, 1991
2. 윤길영: 동의학의 방법론 연구, 서울: 성보사 28:57-65, 1983
3. 이충열, 홍무창, 김완희: 기아상태의 음양론적 해석에 대한 실험적 연구-내분비 지표를 중심으로-, 동의생리학회지 6(1):25-40, 1991
4. 陳達理, 周立紅 編, 中醫基礎理論現代研究, 上海: 上海中醫學院出版社 1-64, 1989
5. Agopyan N, Tokutomi N, Akaike N: Protein kinase A-mediated phosphorylation reduces only the fast desensitizing glycine current in acutely dissociated ventromedial hypothalamic neurons. Neuroscience 56:605-615, 1993
6. Browning MD, Bureau M, Duck EM, Olsen RW: Protein kinase C and cAMP-dependent protein kinase phosphorylate the β -subunit of the purified GABA receptor. Proc Natl Acad Sci

USA 87:1315-1318, 1990

7. Chen L, Huang L-Y M: Sustained potentiation of NMDA receptor-mediated glutamate responses through activation of protein kinase C by μ opioid. *Neuron* 7:319-326, 1991
8. Eusebi F, Molinaro M, Zani BM: Agents that activate protein kinase C reduce acetylcholine sensitivity in cultured myotubes. *J Cell Biol* 100:1339-1342, 1985
9. Jagger DJ, Ashmore JF: The fast activating potassium current, $I(K_f)$, guinea-pig inner hair cells is regulated by protein kinase A. *Neurosci Lett* 263:145-148, 1999
10. Kim CJ, Rhee JS, Akaike N: Modulation of high-voltage activated Ca^{2+} channels in the rat periaqueductal gray neurons by μ -type opioid agonist. *J Neurophysiol* 77:1418-1424, 1997
11. Min BI, Kim CJ, Rhee JS, Akaike N: Modulation of glycine-induced chloride current in acutely dissociated rat periaqueductal gray neurons by μ -opioid agonist, DAGO. *Brain Res* 734:72-78, 1996
12. Nabekura J, Xu TL, Rhee JS, Akaike N: Alpha2-adrenoceptor-mediated enhancement of glycine response in rat sacral dorsal commissural neurons. *Neuroscience* 89:29-41, 1999
13. Porter NM, Twyman RE, Uhler MD, Macdonald RL: Cyclic AMP-dependent protein kinase decreases GABA_A receptor current in mouse spinal neurons. *Neuron* 5:789-796, 1990
14. Ren J, Ye JH, McArdle JJ: cAMP-dependent protein kinase modulation of glycine-activated chloride current in neurons freshly isolated from rat ventral tegmental area. *Brain Res* 811:71-78, 1998
15. Yatani A: Ion channels that are directly regulated by G proteins. *Cell Physiology* 378-385, 1995