

개의 기관근 수축성에 미치는 GABA의 효과

영남대학교 의과대학 약리학교실

구철희 · 권오철 · 최은미 · 이광윤 · 김원준

서 론

중추신경계에서 억제성 신경전달물질로 작용하는 γ -aminobutyric acid(GABA)는 말초조직에도 존재하는데 자궁,¹⁾ 기관지 평활근,²⁾ 부신피질,^{3,4)} 난소⁵⁾ 및 위장 평활근⁶⁾ 등에서 발견되고 있다. GABA는 토끼의 자궁 평활근에서는 직접적으로 작용하여 수축을 일으키며,¹⁾ 개의 난소에서는 교감신경의 접합전 신경원에 존재하는 GABA 수용체에 작용하는 신경전달체의 유리를 억제하고,⁵⁾ 헤명의 회장에서는 접합전 신경원에 작용하여 신경전달체의 유리를 증가시키기도 한다.⁶⁾ 이처럼 말초조직에서 GABA의 작용은 그 조직에 따라 흥분 또는 억제적으로 나타나며 그 작용기전도 서로 상이한 것으로 보고되고 있다. GABA에 대한 수용체는 muscimol 의존형과 baclofen 의존형 수용체들이 존재함이 밝혀졌으며, 이들은 각각 GABA_A 및 GABA_B 수용체라 명명되었다.^{7,8)}

최근 Bolser 등⁹⁾의 보고에 의하면 GABA_B 수용체 효현제들이 기관지경련 같은 기도장애(respiratory disease)의 발생에 중요한 역할을 하는 신경계에 억제적으로 작용한다고 한다.

이와같은 GABA의 말초성작용과 연관성이 있을 것으로 추측되는 치료제로서 중추신경 억제제인 benzodiazepine 계 약물이 있는데, 그 작용기전은 확인되지 않았으나, 소장,¹⁰⁾ 기도,¹¹⁾ 및 자궁¹²⁾ 등

의 평활근 수축을 억제한다고 하였다. 몇몇 연구자들에 의하면 benzodiazepine 계 약물들은 평활근에서 GABA 수용체의 활성을 증가시킨다고 하며¹²⁻¹⁴⁾ 전위의존성 칼슘통로를 봉쇄한다는 설도 있다.¹⁵⁻¹⁸⁾ 그중 diazepam은 임상적으로 불안신경증, 불면증 또는 간질의 치료제로 사용되며,¹⁹⁾ fibroptic bronchoscopy를 위한 전투약으로 사용하거나,²⁰⁻²²⁾ 또는 status asthmaticus의 치료에 이용하기도 한다.²³⁾ 이러한 용도가 단순히 진정작용을 통한 보조역할만을 이용하는 것이라 생각할 수도 있겠으나 Koga 등²⁴⁾의 연구 보고는 주목할 만한 것이다. 즉 그들은 benzodiazepine 계 약물들의 기도 평활근 이완 및 호흡진정 작용은 신경계를 통하는 것이 아니고, 중추성 또는 말초성 benzodiazepine 수용체를 통한 것도 아니며, 평활근 자체에 대한 직접작용으로 나타나는 것이라 하였다.

이에 본 실험에서는 개의 기관 평활근을 사용하여 GABA와 diazepam의 작용 및 GABA 수용체 봉쇄제들의 작용을 검색하여, 기관근에 GABA 수용체의 존재여부를 검정하고, 아울러 diazepam의 작용기전을 추정해 보기로 하였다.

재료 및 방법

개의 기관을 절제하여 4℃의 Tyrode 영양액내에

서 주위조직을 제거한 후 폭 2mm 길이 15mm의 수평 근절편으로 만들었다. 기관근 절편은 양끝을 건사로 결찰하여 한쪽 끝을 1ml의 Tyrode 완충용액(이하 영양액이라 함)이 함유되어 있는 적출 근편 실험조(Biancani's isolated muscle bate)의 기저부에 고정하고 다른 한쪽 끝을 등척성 장력측정기(Force displacement transducer, FT-03, Grass)에 고정하여, polygraph에 그 수축력을 묘기하였다. 실험 조내의 영양액의 온도는 37°C로 유지시키고, 95% 산소와 5% 이산화탄소의 혼합 기체를 공급하여 pH를 7.4로 유지하였다. 본 실험에 사용한 영양액은 NaCl 136.9, KCl 2.68, NaHCO₃ 11.90, NaH₂PO₄ 0.42, MgCl₂ 1.05, CaCl₂ 1.84, Glucose 5.5 (mM)로 제작하였다.

상기의 영양액내에서 최초 2g의 수동 장력을 가한 후 60분동안 영양액을 관류시켰다가, 관류를 멈춘 후 최소한 60분 이상 근절편을 안정시켜 그 장력이 일정하게 유지된 상태에서 다음과 같이 실험을 실시하였다.

전기장 자극 실험은 실험조 내에 장치된 두개의 백금선 전극(직경 0.7mm, 간격 5mm)의 중앙에 위치한 기관근 절편에 electronic stimulator (Nihon-Kohden, SEN 3201)를 사용하여 실시하였으며, 먼저 2, 5, 10 및 20 Hz의 monophasic square wave electric pulse (20 msec duration, 60 VDC)를 2분 간격으로 가하여 나타나는 수축을 기록하고(대조실험), 20 분후에 GABA 또는 diazepam을 첨가하여 10분간 안정시킨 후, 같은 자극을 다시 가하여 그 수축력을 대조실험의 성적과 비교하였다. 이때 GABA와 diazepam의 농도는 각각 10⁻⁵ 및 10⁻⁴M이었다.

GABA 수용체 봉쇄실험으로는 먼저 안정된 근절편에 20Hz의 monophasic square wave electric pulse (20 msec duration, 60 VDC)를 가하여 수축력을 측정하고 5분간 휴식시킨 후 GABA 10⁻⁴M 또는 diazepam 10⁻⁴M를 첨가하여 다시 같은 자극을 가하였다. 여기서 측정된 수축력은 GABA 전처치 없이 자극했을 때의 수축력에 대한 백분율로 나타내고

이를 수용체 봉쇄실험의 대조치로 정하였다. 같은 근절편을 영양액으로 60분동안 관류 세척하고, 관류를 멈춘 후 최소한 60분 이상 근절편을 안정시켜 그 장력이 일정하게 유지되었을 때, 먼저 약물을 처치하지 않은 상태에서 20Hz의 전기장자극을 가한 후, bicuculine 10⁻⁴M 또는 δ-Aminovaleric acid (DAVA)10⁻⁴M를 GABA 10⁻⁴M 또는 diazepam 10⁻⁴M와 동시에 가하여 같은 자극을 반복하였다. 이렇게 하여 얻어진 백분율 성적을 대조실험의 성적과 비교하였다.

각 약물 처치 전후의 성적의 유의성 검정은 모두 paired t-test를 사용하였으며 p 값이 0.05 미만인 것을 유의한 것으로 판정하였다.

본 실험에 사용한 GABA (Sigma), baclofen (Sigma), 및 DAVA (Sigma)등의 약물은 증류수에 용해시켜 사용하였다.

성 적

그림 1은 기관근 절편에 전기장자극을 가하였을 때의 수축 양상을 묘기한 것이다. 근절편은 약물을 전처치 하였을 때나 전처치 하지 않았을 때나 거의

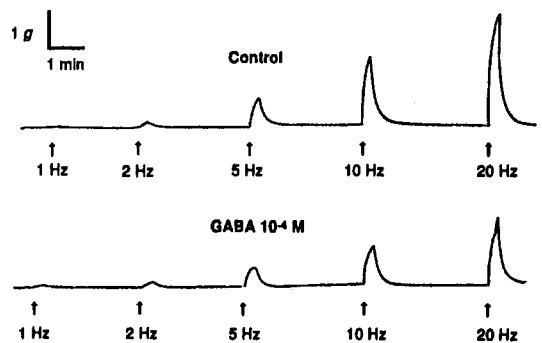


Fig. 1. Typical tracings of electric field stimulation-induced contractions of the tracheal muscle strips isolated from dog.

GABA 10⁻⁴M was added after 15 minutes resting following the initial stimulation for control. The experimental stimulation was performed after 15 minutes equilibration in the presence of GABA.

Table 1. Effect of gamma-aminobutyric acid on the electric field stimulation induced contraction of tracheal muscle isolated from dog

EFS(Hz)	Group	Contraction (G)			
		Control (-5)	GABA-5	Control (-4)	GABA-4
2		0.08 ± 0.03	0.03 ± 0.01	0.07 ± 0.02	0.06 ± 0.02
5		0.34 ± 0.05	0.25 ± 0.05	0.42 ± 0.08	0.32 ± 0.06
10		0.93 ± 0.15	0.95 ± 0.31	1.42 ± 0.26	0.90 ± 0.14*
20		2.57 ± 0.51	2.10 ± 0.54*	3.18 ± 0.40	1.98 ± 0.33*

Values are expressed as $\text{mena} \pm \text{SE}$, GABA; gamma-aminobutyric acid.

Control (-5) and (-4); the control for paired experiment of GABA 10^{-5}M and GABA 10^{-4}M addition, respectively.

* $p < 0.05$; significantly decreased from control (by paired t-Test, $n=10$).

Table 2. Effect of diazepam on the electric field stimulation induced contraction of tracheal muscle isolated from dog

EFS(Hz)	Group	Contraction (G)			
		Control (-5)	DZP-5	Control (-4)	DZP-4
2		0.08 ± 0.03	0.05 ± 0.02	0.08 ± 0.03	0.08 ± 0.03
5		0.50 ± 0.21	0.42 ± 0.15	0.61 ± 0.26	0.27 ± 0.04
10		1.56 ± 0.66	1.48 ± 0.62	1.63 ± 0.43	0.87 ± 0.23*
20		3.00 ± 1.12	2.87 ± 0.91	2.66 ± 0.52	1.93 ± 0.47*

Values are expressed as $\text{mena} \pm \text{SE}$, DZP; diazepam.

Control (-5) and (-4); the control for paired experiment of DZP 10^{-5}M and DZP 10^{-4}M addition, respectively.

* $p < 0.05$; significantly decreased from control (by paired t-Test, $n=6$).

같은 양상으로 수축하였으며 단지 전처리 한 약물에 따라 수축고의 고저만 달랐다. 예시한 경우는 GABA 10^{-4}M 를 전처리한 레에서 대조실험에 비해 수축력이 약간 저하된 경향을 보이고 있다.

표 1은 전기장자극유발 수축에 대한 GABA의 영향을 나타낸 것이다. GABA 10^{-5}M 군의 대조실험에서 근절편은 2, 5, 10, 20Hz의 자극에 의하여 0.08±0.03g에서 부터 0.34±0.05, 0.93±0.15 및 2.57±0.51g까지 수축하였다. 이어서 GABA 10^{-5}M 를 첨가하였을 때 2, 5 및 10 Hz에서는 0.03±0.01, 0.25±0.05 및 0.95±0.31g의 수축을 보임으로서 대조실험의 성적과 차이가 없었으나, 20Hz의 높은 주파수 자극에 의해서는 2.10±0.54g의 수축을 보임으로서 대조실험에 비하여 유의하게 ($p < 0.05$) 억제된 양상을 보였다. GABA 10^{-4}M 군의 대조실험에서 근절편은 2, 5, 10, 20Hz의 자극에 의하여 0.07±0.02g에서부터 0.42±0.08, 1.42±0.26 및 3.18±0.

40g까지 수축하였는데, 이어서 GABA 10^{-4}M 를 첨가하였을 때는 2 Hz와 5Hz에서는 0.06±0.02g과 0.32±0.06g의 수축을 보임으로서 대조실험의 성적과 차이가 없었으나, 10Hz와 20Hz에서는 0.90±0.14 및 1.98±0.33g의 수축을 보임으로서 대조실험에 비하여 각각 유의하게 ($p < 0.05$) 억제되었다. 이 성적을 그림 2에 도시하였다.

표 2는 전기장자극유발 수축에 대한 diazepam의 영향을 나타낸 것이다. diazepam 10^{-5}M 군의 대조실험에서 근절편은 2, 5, 10, 20Hz의 자극에 의하여 0.08±0.03g에서부터 0.50±0.21, 1.56±0.66 및 3.00±1.12g까지 수축하였다. 이어서 diazepam 10^{-5}M 를 첨가하였을 때 2, 5, 10 및 20Hz에서 0.05±0.02, 0.42±0.15, 1.48±0.62 및 2.87±0.91g의 수축을 보임으로서 대조실험의 성적과 차이가 없었다. Diazepam 10^{-4}M 군의 대조실험에서 근절편은 2, 5, 10, 12Hz의 자극에 의하여 0.08±0.03g에서부터 0.

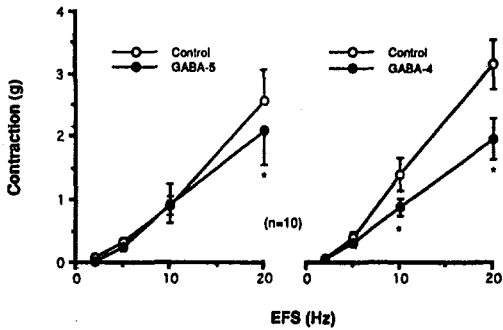


Fig. 2. Effect of gamma-aminobutyric acid on the electric field stimulation-induced contraction of dog tracheal muscle. GABA-5, GABA-4; gamma-aminobutyric acid 10^{-5} and 10^{-4} M, respectively. Each group has the paired control. * $p < 0.05$; significantly different from control. Error bars indicate SE.

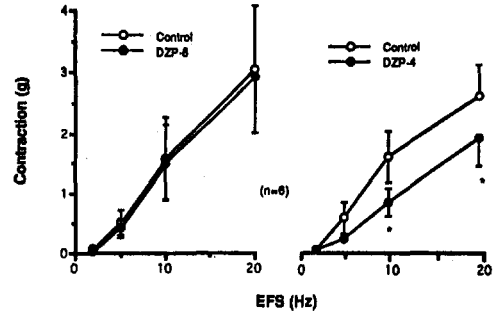


Fig. 3. Effect of diazepam on the electric field stimulation-induced contraction of dog tracheal muscle. DZP-5, DZP-4; diazepam 10^{-5} and 10^{-4} M, respectively. Each group has the paired control. Error bars indicate SE. * $p < 0.05$; significantly different from control.

61 ± 0.26 , 1.63 ± 0.43 및 2.66 ± 0.52 g까지 수축하였는데, 이어서 diazepam 10^{-4} M를 첨가하였을 때는 2Hz와 5Hz에서는 0.08 ± 0.03 g과 0.27 ± 0.04 g의 수축을 보임으로서 대조실험의 성적과 차이가 없었으나, 10Hz와 20Hz에서는 0.87 ± 0.23 및 1.93 ± 0.47 g의 수축을 보임으로서 대조실험에 비하여 각각 유의하게 ($p < 0.05$) 억제된 양상을 보였다. 이 성적을 그림 3에 도시하였다.

표 3은 GABA와 diazepam의 전기장자극유발 수축억제 작용에 대한 bicuculine과 DAVA의 영향을 나타낸 것이다. Bicuculine-GABA군에서 GABA 10^{-4} M는 20Hz의 전기장자극에 의한 근절편의 수축을 $78.4 \pm 9.1\%$ 로 억제하였는데, bicuculine 10^{-4} M존재 하에서는 GABA의 수축억제작용이 완전히 길항되

었고, 근절편의 수축력은 오히려 증가하여 ($p < 0.05$) $119.8 \pm 9.5\%$ 의 수축력을 나타내었다.

DAVA-GABA군에서는 GABA 10^{-4} M 단독으로 첨가되었을 때는 $72.9 \pm 7.9\%$ 로 근수축이 억제되었고, DAVA 10^{-4} M가 함께 첨가되었을 때도 근수축은 $78.7 \pm 9.1\%$ 로서 GABA 단독첨가시와 차이가 없었다. 이 성적은 그림 4에 도시하였다.

Bicuculine-diazepam군에서 diazepam 10^{-4} M는 20Hz의 전기장자극에 의한 근절편의 수축을 $61.5 \pm 8.7\%$ 로 억제하였는데, bicuculine 10^{-4} M존재 하에서는 diazepam의 수축억제작용이 완전히 길항되었고, 근절편의 수축력은 오히려 증가하여 ($p < 0.05$) $121.9 \pm 18.5\%$ 의 수축력을 나타내었다. DAVA-diazepam 군에서는 diazepam 10^{-4} M단독으로 첨가되

Table 3. Effect of bicuculine and delta-aminovaleic acid on the inhibitory effect of GABA and diazepam on the electric field stimulation-induced contraction of canine tracheal muscle

Group	Contraction (G)			
	Control	BCCL	Control	DAVA
GABA	78.4 ± 9.1	119.8 ± 9.5	72.9 ± 7.9	78.7 ± 9.1
DZP	61.5 ± 8.7	$121.9 \pm 18.5^*$	77.6 ± 12.5	71.7 ± 5.6

Values are expressed as mena \pm SE.

BCCL; bicuculine, DAVA; delta-aminovaleic acid. DZP; diazepam. All drugs were added with 10^{-4} M concentration.

* $p < 0.05$; significantly decreased from control (by paired t-Test, $n=7$ for each group).

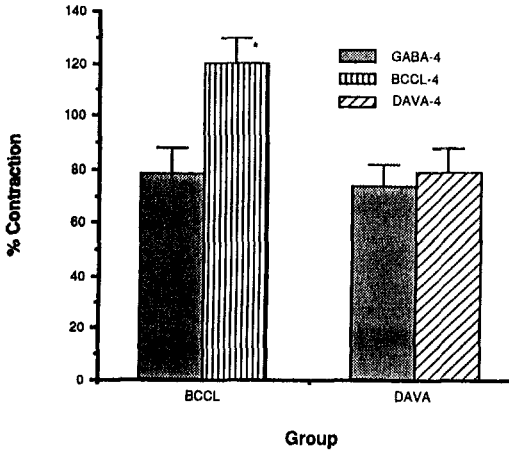


Fig. 4. Effects of bicuculine and delta-aminovaleric acid on the inhibitory action of GABA on the EFS-induced contraction of the canine trachealis muscle. Error bars indicate SE. BCCL, DAVA; bicuculine and delta-aminovaleric acid. All the drugs were added with 10⁻⁴M concentration. *p<0.05; significantly different from GABA. (n=7 for each group)

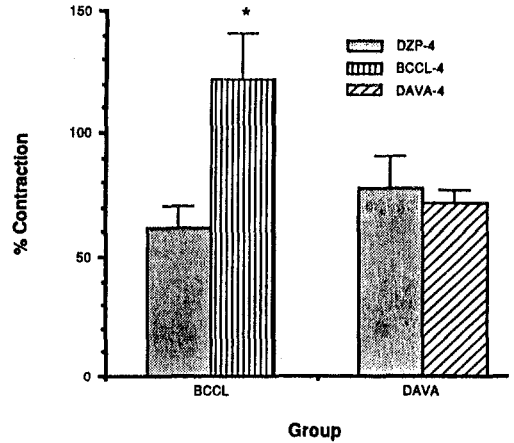


Fig. 5. Effects of bicuculine and delta-aminovaleric acid on the inhibitory action of diazepam on the EFS-induced contraction of the canine trachealis muscle. Error bars indicate SE. BCCL, DAVA; bicuculine and delta-aminovaleric acid. All the drugs were added with 10⁻⁴M concentration. *p<0.05; significantly different from diazepam (n =7 for each group)

있을 때는 77.6±12.5%로 근수축이 억제되었고, DAVA 10⁻⁴M가 첨가되었을 때도 근수축은 71.7±5.6%로서 GABA 단독첨가시와 차이가 없었다. 이 성적은 그림 5에 도시하였다.

고 찰

기도는 생명유지에 절대적인 역할을 담당하는 기관으로서 기도 평활근의 수축은 기도의 저항을 증가시켜 호흡곤란과 아울러 저산소증을 유발할 위험이 있다. 기도의 경련을 주증상으로 하는 기관지천식의 치료를 위해서는 근관에 많은 β-아드레날린성 수용체 효현제들이 발견되어 비교적 양호한 치료 성과를 거두고 있으나 근본적인 치료법은 아직 발견되지 않고 있으며, 특히 기관지경련이 장시간 지속되는 status asthmaticus 같은 경우는 β-아드레날린성 수용체 효현제를 위시해서 부신피질호르몬제, 근이완제 또는 진신마취제까지 사용해 보았으나 별 효과를 얻지 못하고 있으며, 결국은 인공

호흡을 위하여 기관삽관이 필요한 경우도 있다고 한다.

1990년 Mak와 Barnes²⁵⁾가 ligand binding study를 통하여 사람과 해명의 폐조직에서 benzodiazepine 수용체의 존재를 보고한 이래 말초성 benzodiazepine 수용체의 생리적 역할에 관한 연구가 진행되고 있는데, Advenier 등²⁶⁾은 diazepam을 위시한 몇가지 benzodiazepine 유도체들이 해명의 기관지 평활근을 이완시켰다고 보고하였다. 1991년 Chapman 등²⁷⁾은 해명의 기도평활근에서 전기자극으로 인한 수축이 콜린성신경 자극을 통하여 이루어진다는 것을 확인하고, 기도평활근에 GABA_B 수용체가 존재하며, GABA가 이 수용체를 통하여 미주신경성 기관지경련을 억제한다고 보고하였다.

중추신경계에서는 GABA 수용체와 benzodiazepine의 상호관계가 밀접하고, 말초에서도 기도평활근에 대한 양자의 상호관계가 관심을 끌기에 충분하다. 만일 기도평활근이 GABA나 benzodiazepine에 대한 수용체를 가지고 있고 이 수용체를 통한 기도평활근의 이완이 가능하다면 보다 높은 효능

과 선택성 및 안전성을 지닌 새로운 기도평활근 이완제를 찾아내는데 중요한 참고자료로 활용될 수 있을 것이다.

본 실험에서는 GABA와 diazepam이 거의 같은 양상, 같은 정도로 전기장자극유발 수축을 억제하였다. 이는 개의 기관근에 GABA 수용체와 benzodiazepine 수용체가 공존하거나 GABA와 benzodiazepine에 공히 반응하는 수용체가 존재할 것이라는 추측을 가능하게 한다. 실제로 Aley 등²⁶⁾과 Liou 등^{29,30)}은 중추신경계에서 GABA-benzodiazepine 수용체 복합체의 존재에 관하여 언급하였고, Bar-Ami 등³¹⁾은 중추신경계에도 말초형의 benzodiazepine수용체가 존재한다고 하였다.

저자는 개의 기관근에 존재하는 GABA 수용체가 A형인지 B형인지 추정해 보기 위하여 GABA_A 수용체 봉쇄제인 bicuculline과 GABA_B 수용체 봉쇄제인 DAVA를 사용하여 GABA와 diazepam에 의한 수축억제 작용에 어떤 영향을 미치는지 관찰해 보았다. 그 결과 bicuculline은 GABA의 작용뿐만 아니라 diazepam의 작용까지 유의하게 길항하였다. 또 bicuculline은 단순히 길항에만 그친 것이 아니라 GABA나 diazepam 첨가 전보다 더욱 그 수축력을 항진시키는 경향을 보였는데, 이는 정상적인 상태에서 GABA가 GABA_A수용체를 통하여 기관근의 수축력을 조절하고 있기 때문으로 생각된다. 반면에 DAVA는 이들 양자 중 어느 것에도 영향을 미치지 못하였다. 이는 Chapman 등²⁷⁾이 해명에서 관찰보고한 바와는 상반되지만 종간의 차이로 인한 것인지 또는 다른 요소에 의한 것인지는 추후의 계속되는 연구에 의해 밝혀질 것으로 본다. 본 실험의 결과로는 기관근에 GABA_A 수용체가 존재하며 GABA와 diazepam은 이를 통하여 기관근의 전기장자극유발 수축을 억제한다고 생각된다.

이상의 결과로 보아 본 실험의 조건하에서 개의 기관 평활근에는 GABA_A 수용체가 존재하며, GABA와 diazepam은 말초형의 GABA_A 수용체에 작용하여 콜린성 신경지배에 의한 기관근 수축을 억제한다고 사료된다.

요 약

개의 기관 평활근에서 GABA수용체의 존재여부를 검정하고, 아울러 GABA와 diazepam의 작용기전을 추정해 보기 위하여 다음과 같은 실험을 하였다.

개의 기관을 절제하여 4℃의 Tyrode 영양액내에서 폭 2mm 길이 15mm의 수평 근절편으로 만들었다. 기관근 절편은 양끝을 전사로 결찰하여 1 ml의 Tyrode 영양액이 함유되어 있는 직측근편실험조내에서 등척성 장력을 측정하여 polygraph에 그 수축력을 묘기하였다. 실험조내의 영양액의 온도는 37℃로 유지시키고, 95%산소와 5% 이산화탄소의 혼합 기체를 공급하여 pH를 7.4로 유지하였다. 실험조 내에 장치된 두개의 백금선 전극을 통하여 전기장자극을 가하고 전기장자극유발 수축에 대한 GABA와 diazepam 및 GABA 수용체 길항제들의 상호작용을 관찰하였다.

GABA와 diazepam은 기관근 절편의 수축반응을 같은 양상, 같은 정도로 유의하게 억제하였다.

GABA와 Diazepam에 의한 수축억제작용은 GABA_A 수용체 봉쇄제인 bicuculline에 의해서는 유의하게 길항되었으나 GABA_B수용체 봉쇄제인 δ -Aminovaleric acid에 의해서는 전혀 영향을 받지 않았다.

이상의 결과로 보아 본 실험의 조건하에서 개의 기관 평활근에는 GABA_A 수용체가 존재하며, GABA와 diazepam은 말초형의 GABA_A수용체에 작용하여 콜린성신경지배에 의한 기관근 수축을 억제한다고 사료된다.

참 고 문 헌

1. Riesz M, Erdo SL: GABA B receptors in the rabbit uterus may mediate contractile response. Eur J Pharmacol 11: 199-204, 1985.
2. Tamaoki J, Graf PD, Nadel JA: Effect of gamma-

- aminobutyric acid on neurally mediated contraction of guinea pig trachealis smooth muscle. *J Pharmacol Exp Ther* 243 : 86-90, 1987.
3. Sangiah S, Borowitz JL, Yim GWK : Action of GABA, picrotoxin and bicuculline on adrenal medulla. *Eur J Pharmacol* 27 : 130-135, 1979.
 4. Kitayama S, Dohi T, Tsumoto A : The nature of the stimulatory action of gamma aminobutyric acid in the isolated perfused dog adrenals. *NSAP* 326 : 106-110, 1984.
 5. Owman PC, Schmidt COG, Walles B : Evidence prejunctional GABA_B receptor mediation inhibition of ovarian follicle contraction induced by nerve stimulation. *Eur J Pharmacol* 122 : 123-129, 1986.
 6. Kleinlok A, Kilbinger H : gamma-Aminobutyric acid and cholinergic transmission in the guinea pig ileum, *NSAP* 322 : 216-220, 1983.
 7. Kaplita PV, Waters JM, Triggler DJ : GABA action in guinea pig ileal myenteric plexus. *Eur J pharmacol* 79 : 42-51, 1982.
 8. Ong J, Kerr DIB : GABA_A and GABA_B receptor mediated modification of intestinal motility. *Eur J pharmacol* 94 : 305-312, 1983.
 9. Bolser DC, Aziz SM, DgGennaro FC, Kreutner W, Egan RW, Siegel MI, Chapman RW : Antitussive effects of GABA_B agonists in the cat and guinea-pig. *Br J Pharmacol (ENGLAND)* 110(1) : 491-495, 1993.
 10. Hullihan JP, Spector S, Taniguchi T, Wang JKT : The binding of [3H]-diazepam to guinea pig ileal longitudinal muscle and the in vitro inhibition of contraction by benzodiazepines. *Br J Pharmacol* 78 : 321-327, 1983.
 11. Raeburn D, Miller LG, Summer WR : Peripheral type benzodiazepine receptor and airway smooth muscle relaxation. *J Pharmacol Exp Ther* 245(2) : 557-562, 1988.
 12. Sizov PI, Iasnetsov VS : Effect of GABA, its agonists and antagonists on uterine smooth muscle. *Biull Eksp Biol Med*, 100 : 576-578, 1985.
 13. Taniyama K, Hashimoto S, Hanada S, Tanaka C : Benzodiazepines and barbiturate potentiate the pre- and postsynaptic GABA_A receptor mediated response in the enteric nervous system of guinea pig small intestine. *J Pharmacol Exp Ther* 245(1) : 250-256, 1988.
 14. Tonini M, Onori L, Manzo L, Rizzi CA, Crema A : Cholinergic contractions induced by GABA_A receptor activation in the guinea pig ileum are inhibited by alpha chymotrypsin and potentiated by diazepam. *Arch In Pharmacodyn* 296 : 173-183, 1988.
 15. Leslie SW, Chandler LJ, Chweh AY, Swinyard EA : Correlation of the hypnotic potency of benzodiazepines with inhibition of voltage dependent calcium uptake into mouse brain synaptosomes. *Eur J Pharmacol* 126(1-2) : 129-134, 1986.
 16. Mestre MT, Belin CC, Uzan A, Renault C, Dubroeuq MC, Gueremy C, Doble A, Fur GL : Electrophysiological and pharmacological evidence that peripheral type benzodiazepine receptors are coupled to calcium channels in the heart. *Life sciences* 36(4) : 391-400, 1985.
 17. Rampe D, Triggler DJ : Benzodiazepine interactions at neuronal and smooth muscle Ca⁺⁺ channels. *Eur J Pharmacol* 134(2) : 189-197, 1987.
 18. Rampe D, Triggler DJ : Benzodiazepine and calcium channel function. *TIPS* 7(11) : 461, 1986.
 19. Orelan L : The benzodiazepines : a pharmacological overview. *Acta Anesthesiol Scand* 88(Suppl) : 13, 1988.
 20. Kolek V, Jezdinsky J : Comparative study of

- midazolam and diazepam in premedication of bronchoscopy. *Acta Unta Univ Palacki Olomuc Fac Med* 131 : 233-241, 1991.
21. Keane D, McNicholas WT: Comparison of nebulized and sprayed topical anaesthesia for fiberoptic bronchoscopy. *Eur Respoir J (DENMARK)* 5(9) : 1123-1125, 1992.
 22. Wangemann Bu, Jantzen JP : [Fiberoptic intubation of neurosurgical patients] *Neurochirurgia (Stuttg) (GERMANY)* 36 (4) : 177-122, 1993,
 23. Kruger AD, Benad G : [The treatment of status asthmaticus using ketamine-experimental results and clinical experience] *Anasesthesiol Reanim (GERMANY)* 17(3) : 109-130, 1992.
 24. Koga Y, Sato S, Sodeyama N, Takahashi M, Koto M, Iwatsuki N, Hashimoto Y : Comparisof the relaxant effects of diazepam, flunitrazepam and midazolam on airway smooth muscle. *Br J Anaesth* 69(1) : 65-69, 1992.
 25. Make JC, Barnes PJ : Peripheral type benzodiazepine receptors in human and guinea pig lung : characterization and autoradigraphic mapping. *J Pharmacol Exp Ther* 252(2) : 880-885, 1990.
 26. Advenier C, Devillier P, Blanc M, Gnassounou JP : Peripheral type benzodiazepine receptors and response to adenosine on the guinea-pig isolated trachea, *Pulm Pharmacol* 3(3) : 137-144, 1990.
 27. Chapman RW, Danko G, Rizzo C, Egan RW, Mauser PJ, Kreutner W : Prejunctional GABA_B inhibition cholinergic, neurally mediated airway contractions in guinea-pigs. *Pulm Pharmacol* 4(4) : 218-224, 1991.
 28. Aley Ko, Kulkarni SK, Mathur R, Nayar U : Effect of chronic treatment of Ro 15-1788 and its withdrawal on cortical and hippocampal EEG activity in rats. *Indian J Exp Bi* 28(12) : 1149-1159, 1990.
 29. Liou SY, Shibata S, Albers HE, Ueki S : Effects of GABA and anxiolytics on the single unit discharge of suprachiasmatic neurons in rat hypothalamic slices. *Brain Res Bull* 25(1) : 103-107, 1990.
 30. Fleshner M, Brohm MM, Laudenslager ML, Watkins LR, Maier SF : Modulation of the in vivo antibody reponse by a benzodiazepine inverse agonist (DMCA) administered centrally or peripherally. *Physiol Behav* 54(6) : 1149-1154, 1993.
 31. Bar-Ami S, Amiri Z, Weizman A, Fares F, Gavish M : Long-term testosterone of diethylstilbe strol treatment affects gamma-aminobutyric acid and central-type benzodiazepine receptors but not peripheral-type benzodiazepine receptors in the female rat brain. *Neuroendocrinology* 57(6) : 1114-1118, 1993.

-Abstract-

Effect of GABA on the Contractility of Isolated Canine Trachealis Muscle

Cheol Hoe Koo, Oh Chul Kwon, Eun Mee Choi
Kwang Youn Lee, Won Joon Kim

*Department of Pharmacology
College of Medicine, Yeungnam University
Taegu, Korea*

This study aimed to investigate the existence of GABA receptor and the mechanisms of action of GABA and diazepam on the trachealis muscle isolated from dog. Horizontal muscle strips of 2mm×15mm were prepared from canine trachea, and isometric myography in isolated muscle chamber bubbled with 95/5%-O₂/CO₂ at 36°C, at the pH of 7.4 was performed.

Muscle strips contracted responding to the electrical field stimulation (ESP) by 2~20 Hz, 20 msec, monophasic square wave of 60 VDC

GABA and diazepam suppressed the EFS-induced contractions to the similar extent, significantly. ($p < 0.05$)

Bicuculline, a GABA_A receptor antagonist blocked both GABA- and diazepam- inhibitions; but DAVA, a GABA_B receptor antagonist did not affect either of them.

These results suggest that in the canine trachealis muscle, there may be only GABA_A receptor, and GABA and diazepam inhibit the contractility via GABA_A receptor.

Key Words : GABA receptor, benzodiazepine receptor, trachea, diazepam, DAVA