

흰쥐 배뇨근에 존재하는 potassium 통로의 특성

영남대학교 의과대학 약리학교실

장명수 · 최은미 · 하정희 · 이광윤 · 김원준

서 론

세포막의 potassium 통로는 탈분극된 세포막의 재분극에 결정적인 역할을 하며, potassium 통로 개방약물들은 세포막의 과분극을 일으켜 강력한 평활근 이완 작용을 나타낸다.^{1,2} Potassium 통로 개방약물은 화학구조에 따라 benzopyran, guanidine, pyridine, pyrimidine, benzothiadiazine, thioformamide 및 1,4-dihydropyridine 등의 유도체들로 분류된다. 이중 guanidine 유도체인 pinacidil은 대개 고혈압의 치료에 대한 임상적 시도가 이루어져^{3,5} 거의 실용화 단계에 있으며, benzopyran 유도체인 cormakalim(BRL 34915)과 pinacidil은 협심증에 대한 효능^{5,7}이 연구되고 있다. Pinacidil을 비롯하여 cromakalim의 L-enantiomer인 BRL 38227 (temakalim)과 thioformamide 유도체인 RP 52891이 기관지천식 치료제로서의 가능성이 검토되고 있으며,^{8,11} 또 pinacidil이나 cormakalim에 대해서는 노실금 치료제로서의 가능성을 기대하여 시행한 동물실험 보고도 있다.¹²⁻¹⁵

세포막의 potassium 통로는 각각 특성이 다른 몇 종류가 있는데 현재까지 알려진 것은 전위의존성 potassium 통로, 칼슘의존성 potassium 통로 및 ATP 의존성 Potassium 통로 등이다.

전위의존성 potassium 통로는 신경세포나 골격

근 및 평활근 세포에 존재하며 세포막의 탈분극시에 개방되어 재분극에 기여하는데, 그 봉쇄제인 procaine은 잘 알려진 국소마취제로서 신경세포에서 sodium통로와 potassium 통로를 봉쇄하며,^{16,17} 평활근세포에서의 potassium통로 봉쇄작용에 관한 연구도 진행되고 있다.¹⁸ 칼슘의존성 potassium통로는 1981년 Arner와 Stallcup¹⁹에 의해 보고되었으며, Wong 등²⁰은 세포내 칼슘이 증가하면 칼슘의존성 potassium통로가 열린다고 하였다. 칼슘의존성 potassium 통로의 봉쇄제인 apamin은 1970년대 후반에 벌의 독액으로부터 분리 정제 및 생합성된 polypeptide neurotoxin^{21,22}으로서, Vladimirova와 Shuba²³에 의해 해명의 위장관평활근에서 비아드레날린성 평활근 이완작용에 대한 특이한 길항작용이 있음이 보고되었고, Burgess 등²⁴과 Jones 등²⁵은 apamin이 해명의 간장세포²⁴와 기관근²⁵에서 각각 칼슘의존성 potassium 통로를 봉쇄한다고 보고하였다.

ATP 의존성 potassium통로는 췌장의 β -세포, 심근 세포 및 혈관 평활근에서 발견되었다.²⁶ 췌장의 β -세포에서 발견되는 ATP 의존성 potassium통로는 sulfonylurea계통의 혈당강하제인 glibenclamide에 의해 봉쇄되며, 혈당증가작용을 가진 호르몬인 galanin에 의해 개방된다고 하며,²⁷ 또 심근이나 혈관 평활근에도 췌장의 β -세포에서와 유사한 특성을

갖는 ATP 의존성 potassium통로가 존재한다고 하였다.²⁸⁻³⁰⁾ ATP 의존성 potassium통로의 개방제인 galanin은 1983년 Tatemoto 등³¹⁾에 의해 돼지의 장관으로부터 분리된 neuropeptide 호르몬으로서, 사람과 몇몇 동물에서 ATP 의존성 potassium 통로를 개방시킴으로써 위장관 평활근의 운동성을 억제하며, 췌장의 인슐린 분비를 억제하여 고혈당증을 유발한다고 하였다.^{32,33)} 이 ATP 의존성 potassium통로 봉쇄제인 glibenclamide는 1969년 Mehnert와 Karg³⁴⁾에 의해 보고된 sulfonylurea계 경구용 혈당강하제로서, 췌장을 비롯해서 혈관평활근,¹⁾ 흰쥐의 대뇌 피질과 자궁^{35,36)}등에서도 작용한다.

Potassium 통로 개방제의 배뇨근에 대한 작용의 연구보고는 많지 않은데, Grant와 Zuzack¹⁵⁾ 및 Fujii등¹³⁾은 해명의 배뇨근에 전위의존성 및 ATP 의존성 potassium 통로가 함께 존재한다고 하였다.

사람의 배뇨근에 대한 연구보고를 보면, Andersson 등³⁷⁾과 Fovaeus 등³⁸⁾은 pinacidil이 사람의 적출배뇨근에서 potassium통로를 개방하여 세포막을 과분극시킴으로써 이완작용을 나타내었다고 하였다. 그러나 최근 pinacidil을 임상에 적용해 본 Hedlund 등³⁹⁾의 보고를 보면, 혈압을 유의하게 강하시키는 용량에서 배뇨근 반사항진에 대한 치료효과를 얻지 못하였다고 하였다.

본 연구에서는 여러가지 평활근에 대한 현저한 이완작용을 보임으로써 그 임상적용의 가능성을 보이고 있는 pinacidil, RP 52891 및 BRL 38227을 사용하여, 적출된 흰쥐의 배뇨근에 대한 이들 약물들의 효과를 검색하고, 흰쥐의 배뇨근에 존재하는 potassium 통로가 전위의존성인지, 칼슘의존성인지, 혹은 ATP 의존성인지를 알아 보기 위하여 본 실험을 하였다.

재료 및 방법

실험 동물은 체중 250~350g의 흰쥐(Sprague-Dawley)로서 성별에 관계없이 사용하였다. 먼저 흰

쥐는 단두하여 희생시켰으며, 복부를 정중절개하여 방광을 분리 적출하였다. 적출된 방광은 4℃의 Tyrode 완충용액내에서 지방과 점막을 제거한 후 정부 하방 2mm에서 폭 1.5mm의 수평 고리를 잘라내어, 이 고리의 후방 중간지점을 잘라 길이 1.5cm의 배뇨근절편으로 만들었다.

배뇨근 절편은 양끝을 전사로 결찰하여 한쪽 끝을 1ml의 Tyrode 영양액(이하 영양액이라 함)이 함유되어 있는 적출근편 실험조(Biancani's isolated muscle chamber)의 바닥에 고정하고 다른 한쪽 끝을 등척성 장력측정기(Force displacement transducer, FT-03, Grass)에 연결하여, polygraph (Model 79E, Grass)를 사용하여 그 수축력을 묘사하였다.

실험조내의 영양액의 온도는 37℃로 유지시키고, 95% 산소와 5% 이산화탄소의 혼합 기체를 공급하여 pH를 7.4로 유지하였다.

영양액은 NaCl 136.9, KCl 2.68, NaHCO₃ 11.90, NaH₂PO₄ 0.42, MgCl₂ 1.05, CaCl₂ 1.84, glucose 5.5(mM)로 제조하였다.

현수된 근절편에는 최초 3g의 수동 장력을 가한 후 60분 동안 영양액을 관류시켰다가, 관류를 멈춘 후 최소한 60분 이상 근절편을 안정시켜 그 장력이 일정하게 유지된 상태에서 실험을 실시하였다.

먼저 대조군의 실험으로서 potassium 통로 개방 약물인 pinacidil, RP 52891, BRL 38227 및 galanin의 누적농도 첨가에 의한 기본 장력의 변동을 관찰하였다. 또 procaine과 apamin 및 glibenclamide의 존재하에서 누적농도 반응실험을 실시하여 장력의 변화를 대조군과 비교, 관찰하였다.

배뇨근 절편에서 각 약물의 누적농도 반응곡선은 Multifit® program (Macintosh v2.01, Day Computing, Cambridge, UK)을 이용하여 Clark의 약물-수용체 상호작용 공식에 적용시켜 중간유효농도(EC₅₀)와 최대반응치(Emax)를 산출하였다. 각 약물 처치 전후의 성적의 유의성 검정은 Student's t-test를 사용하였으며 p 값이 0.05 미만인 것을 유의한 것으로 판정하였다.

본 실험에 사용한 약물 중 pinacidil(Leo, 기증), RP 52891(Rhone-Poulenc Rorer, 기증), BRL 38227 (Smithkline Beecham, 기증) 및 glibenclamide(Sigma)는 순수 ethanol을 사용하여 10^{-3} M의 농축용액을 만들어 -20°C 에 보관하였다가, 실험 직전에 증류수로 희석하여 사용하였다. 그의 apamin(Sigma), ethylenediamine tetraacetic acid disodium salt dihydrate(Fluka AG), galanin(Sigma), procaine (Sigma) 등의 약물은 증류수에 용해시켜 사용하였다. 각 약물의 고농도 aliquot들은 실험 당일에 일정한 비율로 희석하였고 micropipette를 사용하여 1ml 용량의 실험조내에 약물 10 μl 를 점적함으로써 약물이 실험조내에서 100배로 희석되어 목표로 하는 최종 농도에 이르게 하였다.

성적

Pinacidil, RP 52891 및 BRL 38227은 원위 방광에서 적출한 배뇨근절편의 기본 장력 및 자발 수축을 농도 의존적인 양상으로 억제하였다(그림 1,2). RP 52891의 중간 유효농도(EC_{50} , nM)는 9.7 ± 1.4 로서 BRL 38227의 87.7 ± 17.8 에 비하여 유의하게 ($p < 0.05$) 낮았으며, pinacidil의 EC_{50} 는 68.1 ± 27.4 이었다(그림 2, 표 1-3). Pinacidil, RP 52891 및 BRL 38227의 E_{max} (%)는 각각 74.6 ± 4.6 , 85.2 ± 1.7 및 82.2 ± 2.7 이었다(그림 2, 표 1-3)

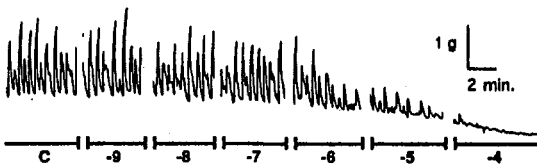


Fig. 1. A typical drawing of a concentration response to RP 52891. Other potassium channel openers, BRL 38227 and pinacidil also showed exactly the same pattern as RP 52891. C; control state. Numbers under the horizontal line indicate the concentrations of drug as 10^x M.

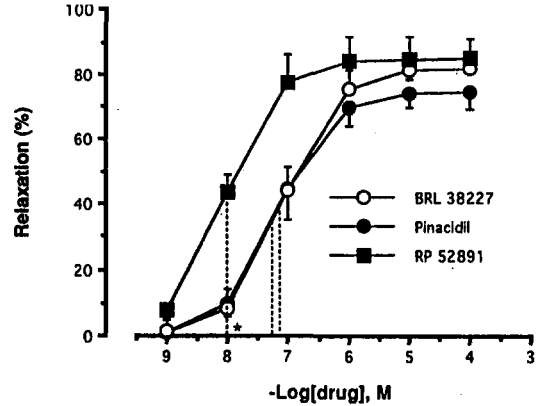


Fig. 2. Concentration-response curves of potassium channel openers on the isolated rat detrusor muscle. The intersections of dotted lines with curves and abscissa indicate the $1/2E_{max}$ and EC_{50} , respectively. Values are expressed as Mean \pm SE of %-relaxation. * $p < 0.05$; significantly different from BRL 38227.

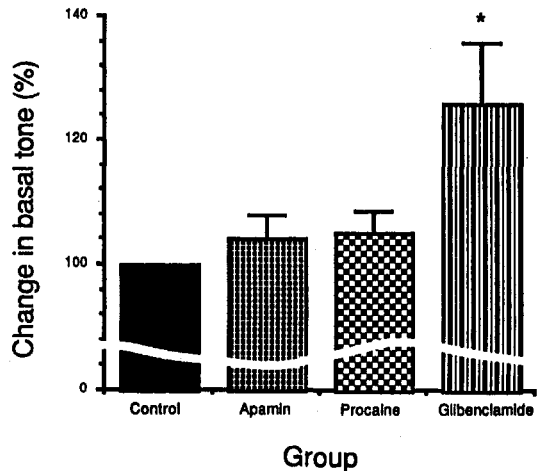


Fig. 3. Effects of potassium channel blockers (10^{-5} M of each drug) on the isolated rat detrusor muscle. Values are expressed as Mean \pm SE of %-change in basal tone. * $p < 0.05$; significantly different from control.

전위의존성 potassium 통로 봉쇄제인 procaine (10^{-5} M)은 배뇨근의 기본장력에 유의한 영향을 미치지 않았으며(그림 3), 10^{-6} M 및 10^{-5} M procaine 전처치군의 pinacidil, RP 52891 및 BRL 38227 유발근이완작용은 대조군에 비하여 유의한 차이가 없었다(표 1, 그림 4).

Table 1. EC_{50} and E_{max} of RP 52891, BRL 38227 and pinacidil of the isolated detrusor muscle strips of the rats in the presence of procaine

EC_{50} (nM)			
Group	RP 52891	BRL 38227	Pinacidil
Control	9.7 ± 1.4 †	87.7 ± 17.8	68.1 ± 27.4
Pro-6	5.1 ± 2.3	56.9 ± 42.4	15.9 ± 6.1
Pro-5	6.3 ± 1.9	45.8 ± 18.7	64.1 ± 31.3
E_{max} (%)			
Group	RP 52891	BRL 38227	Pinacidil
Control	85.2 ± 1.7	82.2 ± 2.7	74.6 ± 4.6
Pro-6	82.1 ± 4.7	80.8 ± 8.9	73.3 ± 3.9
Pro-5	79.3 ± 3.1	84.6 ± 5.0	68.1 ± 5.0

Values are expressed as $EC_{50} \pm SE$ and $E_{max} \pm SE$ calculated by the curve-fitting (to Clark's equation of drug-receptor interaction) of the concentration-response curves. Pro-6, Pro-5 mean the concentrations of procaine 10^{-6} M and 10^{-5} M, respectively.

† $p < 0.05$; significantly different from BRL 38227 (n=7 for each group).

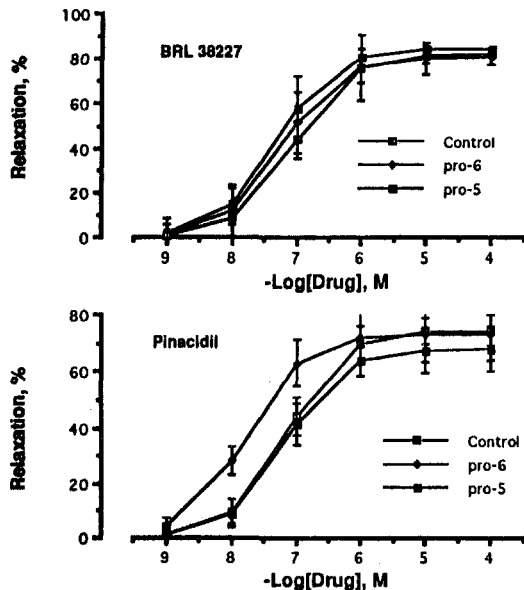
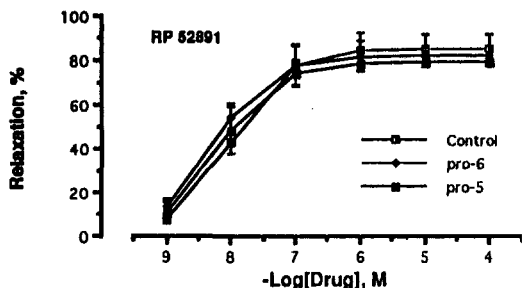


Fig. 4. Effects of procaine on the relaxant action of the potassium channel openers on the isolated rat detrusor muscle. pro-6; procaine 10^{-6} M, pro-5; procaine 10^{-5} M. Values are expressed as Mean \pm SE of %-relaxation.

칼슘의존성 potassium 통로 봉쇄제인 apamin(10^{-5} M)은 배뇨근의 기본 장력에 유의한 영향을 미치지 않았으며(그림 3), 10^{-6} M 및 10^{-5} M apamin 전처치군의 pinacidil 유발근이완작용에는 유의한 영향을 미치지 못하였다. Apamin은 RP 52891 및 BRL 38227 유발근이완 작용에 대해서는 EC_{50} 에는 영향을 주지 않았으나 10^{-5} M의 고농도에서는 최고효능을 억제하였는데, RP 52891의 경우는 $70.4 \pm 4.7\%$ 로서 대조군의 $85.2 \pm 1.7\%$ 에 비해 유의하게 낮았고, BRL 38227의 경우는 $64.6 \pm 6.0\%$ 로서 대조군의 $82.2 \pm 2.7\%$ 에 비하여 유의하게 낮았다(표 2, 그림 5).

ATP의존성 potassium 통로 봉쇄제인 glibenclamide는 배뇨근 절편의 기본 장력을 증가시켰는데 10^{-5} M에서의 증가율은 $26.4 \pm 9.9\%$ 로서 유의하였다($p < 0.05$) (그림 3). 10^{-6} 및 10^{-5} M의 glibenclamide를 전처치한 군에서는 pinacidil, RP 52891 및 BRL 38227 유발근이완 작용이 길항되었다(표 3, 그림 6). 10^{-5} M glibenclamide 전처치군에서 pinacidil, RP

52891 및 BRL 38227의 EC_{50} (nM)는 각각 567.3 ± 133.3 , 234.5 ± 20.9 , 850.2 ± 97.1 로서 대조군의 68.1 ± 27.4 , 9.7 ± 1.4 및 87.7 ± 17.8 에 비하여 유의하게 ($p < 0.05$) 증가되었다. 10^{-5} M glibenclamide 전처치군에서 pinacidil, RP 52891 및 BRL 38227의 E_{max} (%)는 64.3 ± 2.7 , 67.0 ± 1.0 , 61.1 ± 1.3 으로서 대조군의 74.6 ± 4.6 , 85.2 ± 1.7 및 82.2 ± 2.7 에 비하여 유의하게 감소되었다($p < 0.05$) (표 3, 그림 6)

그림 7은 galanin을 누적 농도로 첨가하였을 때의 반응을 도시한 것이다. Galanin은 배뇨근절편의 기본장력을 증가시켰는데(그림 7-B) 10^{-7} M에서 최대반응을 나타내어 그 장력이 1.19 ± 0.11 g에 달하였는바, 이는 galanin 투여전의 0.73 ± 0.06 g에 비하여 유의하게 높았다(그림 7-A).

Table 2. EC_{50} and E_{max} of RP 52891, BRL 38227 and pinacidil of the isolated detrusor muscle strips of the rats in the presence of apamin

Group	EC_{50} (nM)		
	RP 52891	BRL 38227	Pinacidil
Control	$9.7 \pm 1.4 \uparrow$	87.7 ± 17.8	68.1 ± 27.4
Apa-6	14.6 ± 2.6	193.1 ± 115.1	5.9 ± 2.3
Apa-5	40.6 ± 19.2	70.6 ± 43.0	42.8 ± 26.0
Group	E_{max} (%)		
	RP 52891	BRL 38227	Pinacidil
Control	85.2 ± 1.7	82.2 ± 2.7	74.6 ± 4.6
Apa-6	79.1 ± 2.0	70.7 ± 6.8	67.1 ± 3.4
Apa-5	$70.4 \pm 4.7^*$	$64.6 \pm 6.0^*$	67.0 ± 5.8

Values are expressed as $EC_{50} \pm SE$ and $E_{max} \pm SE$ calculated by the curve-fitting (to Clark's equation of drug-receptor interaction) of the concentration-response curves. Apa-6, Apa-5 mean the concentrations of apamin 10^{-6} M and 10^{-5} M, respectively.

$\uparrow p < 0.05$; significantly different from BRL 38227 (n=7 for each group).

* $p < 0.05$; significantly different from control (n=7 for each group).

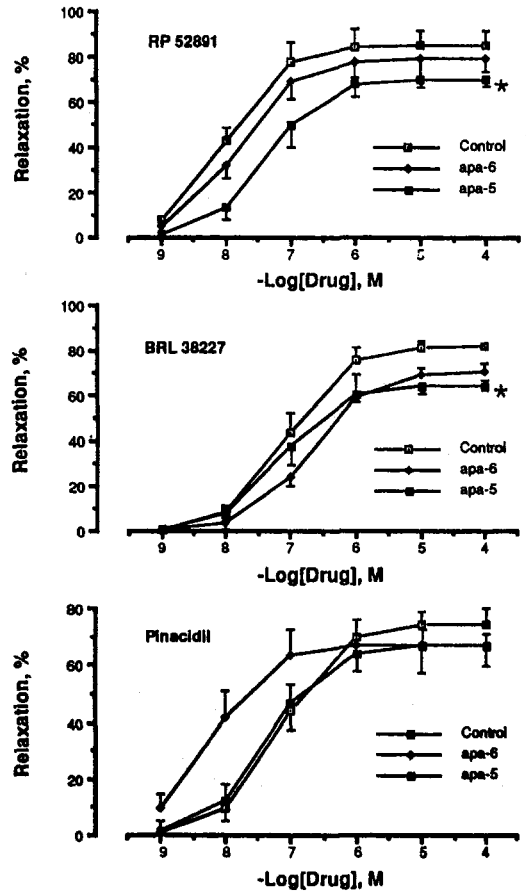


Fig. 5. Effects of apamin on the relaxant action of the potassium channel openers on the isolated rat detrusor muscle. apa-6; apamin 10^{-6} M, apa-5; apamin 10^{-5} M. Values are expressed as Mean \pm SE of %-relaxation.

* $p < 0.05$; significantly different from control.

Table 3. EC_{50} and E_{max} of RP 52891, BRL 38227 and Pinacidil of the isolated detrusor muscle strips of the rats in the presence of glibenclamide

Group	EC_{50} (nM)		
	RP 52891	BRL 38227	Pinacidil
Control	$9.7 \pm 1.4 \uparrow$	87.7 ± 17.8	68.1 ± 27.4
Gli-6	12.1 ± 2.2	$297.1 \pm 64.4^*$	$235.8 \pm 28.5^*$
Gli-5	$234.5 \pm 20.9^*$	$850.2 \pm 97.1^*$	$567.3 \pm 133.3^*$

Group	Emax (%)		
	RP 52891	BRL 38227	Pinacidil
Control	85.2±1.7	82.2±2.7	74.6±4.6
Gli-6	68.7±1.8*	75.9±2.6	67.1±1.3
Gli-5	67.0±1.0*	61.1±1.3*	64.3±2.7

Values are expressed as $EC_{50} \pm SE$ and $Emax \pm SE$ calculated by the curve-fitting (to Clark's equation of drug-receptor interaction) of the concentration-response curves. Gli-6, Gli-5 mean the concentrations of glibenclamide 10^{-6} M and 10^{-5} M, respectively.

† $p < 0.05$; significantly different from BRL 38227 (n=7 for each group).

* $p < 0.05$; significantly different from control (n=7 for each group).

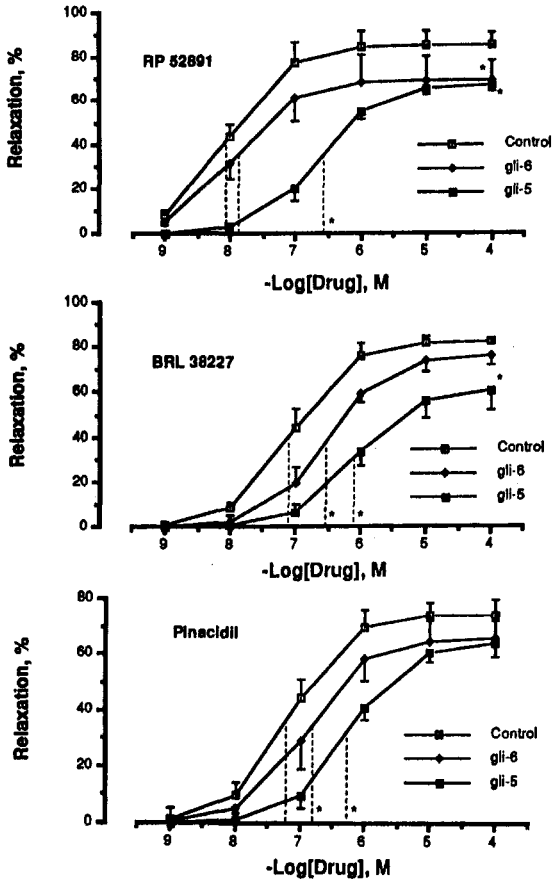


Fig. 6. Effects of glibenclamide on the relaxant action if the potassium channel openers on the isolated rat detrusor muscle. gli-6; glibenclamide 10^{-6} M. gli-5; glivenclamide 10^{-5} M. The intersections of dotted lines with curves and abscissa indicate the $1/2E_{max}$ and EC_{50} , respectively. values are expressed as Mean \pm SE of %-relaxation.

* $p < 0.05$; significantly different from control.

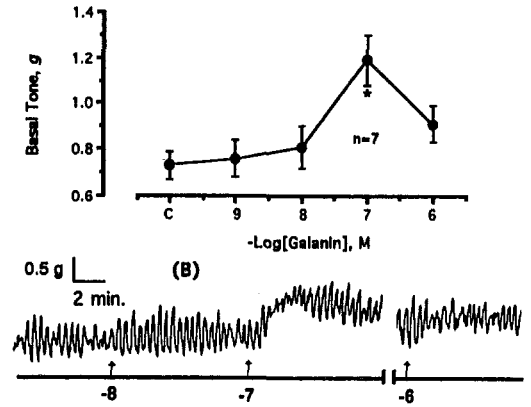


Fig. 7. Concentration-response curve (A) and a typical drawing (B) of the response to a cumulative addition of galanin to the detrusor muscle strip isolated from rat. C; control, nontreated state * $p < 0.05$; significantly different from control.

고찰

췌장의 β -세포에서 발견된 ATP 의존성 potassium 통로는 포도당 유발 insulin 분비에 중요한 역할을 하며 tolbutamide를 위시한 sulfonylurea 계 혈당강하제들은 potassium 통로를 봉쇄하여 β -세포의 세포막을 탈분극시킴으로써 인슐린 분비를 증가시킨다는 보고가 있다.^{40,41)}

심근 세포에도 췌장에서와 유사한 ATP 의존성 potassium 통로가 존재하며 허혈, 산소결핍 상태 및 대사성 증독 등의 ATP 생성이 저하되는 상태를 실험적으로 유발했을 때 이 potassium 통로를 통한

potassium의 소실이 발생한다고 한다.⁴²⁾ 이는 심근 경색 발발 후 첫 1시간 이내에 발생하는 심실 세동이나 이로 인한 사망의 기전을 설명해 주는 좋은 근거가 될 수 있으며, bretylium tosylate와 bethanide sulfate의 심실세동 억압작용도 potassium 통로 봉쇄작용일 것이라고 하는 견해도 있다.⁴³⁾ 이러한 이론적 근거에서 Cook⁴⁴⁾은 tolbutamide나 glibenclamide 같은 ATP 의존성 potassium 통로 봉쇄 약물들이 허혈로 인해 유발되는 심부정맥을 억제하는데 유효할 것이라 추정하였다.

ATP 의존성 potassium 통로는 혈관 평활근²⁶⁾ 및 해명의 배뇨근¹⁵⁾등에도 존재함이 보고되었다.

본 실험에서는 cyanoguanidine 유도체인 pinacidil, tetrahydrothiopyrane 유도체인 RP 52891 및 새로운 benzopyran 유도체인 BRL 38227을 사용하였다. 이들은 각기 상이한 구조를 가졌음에도 불구하고 흰쥐 배뇨근의 기본장력 및 자발수축운동에 대하여 서로 유사한 양상으로 농도의존적 억제 작용을 나타내었다. 단, 그 작용강도에 있어서 차이가 있었는데, RP 52891이 가장 강하였고, 그 다음이 pinacidil, BRL 38227의 순이었다.

Potassium 통로 봉쇄제로는 procaine, apamin 및 glibenclamide를 사용하였다. Potassium 통로 봉쇄제는 그 작용의 특이성이 중복되어 있고 선택적인 약물은 적지만 평활근에 존재하는 potassium 통로의 특성을 알아보는 도구로서 지금까지 종종 사용되어 왔다.¹⁾ 실험동물에서 배뇨근의 potassium 통로에 관한 연구보고는 많지 않으나 해명의 배뇨근에 관한 연구보고들이 있다.^{13, 15)}

해명의 경우 BRL 34915에 의한 이완작용이 ATP 의존성 potassium 통로 봉쇄제인 glibenclamide와 전위의존성 potassium 통로 봉쇄제인 procaine에 의해 길항되었으며, 칼슘의존성 potassium 통로 봉쇄제인 apamin에 의해서는 길항되지 않았다고 한다.^{13, 15)}

본 실험에 사용된 potassium 통로 개방제의 배뇨근 이완작용은 procaine에 의해서는 길항되지 않았다. 해명의 경우는 procaine 누적 농도 실험에서 수

축 반응을 유발하였으나, 본 실험에서는 기본 장력의 유의한 증가를 나타내지 못하였는데, 이로 보아 흰쥐의 배뇨근에는 전위의존성 potassium 통로는 존재하지 않거나 별로 중요한 역할을 하지 못하는 것으로 추측된다.

또 apamin은 배뇨근의 기본장력에 별다른 영향을 미치지 않았고, apamin 전처치가 potassium 통로 개방제의 배뇨근이완 작용에 상경적인 길항작용은 관찰되지 않았는데, 이는 해명의 경우와 일치한다고 생각된다. 그러나 그 최대효능의 감소작용에 대해서는 potassium 통로와의 연관성을 가지고 설명하기가 어려우며 아마도 calcium 의존성 potassium 통로봉쇄 이외의 기전에 의해 일어난 것으로 생각된다.

Glibenclamide 처치군에서는 흰쥐의 배뇨근에 대한 pinacidil, RP 52891 및 BRL 38227의 이완작용이 길항됨을 관찰하였으며, glibenclamide 자체에 의해서도 수축 반응을 나타내어 potassium 통로 개방제와 상반되는 작용을 나타내었다. 이러한 glibenclamide의 실험 결과는 해명 배뇨근의 경우와 일치하며,^{13, 15)} 본 실험에서 사용한 흰쥐 배뇨근에는 췌장의 β -세포, 심근세포 및 혈관평활근 등에서 발견되는 ATP 의존성 potassium 통로가 존재하는 것으로 추측된다.

De Welle 등²⁷⁾은 고혈당 유발 호르몬인 galanin이 췌장의 β -세포에서 ATP 의존성 potassium 통로를 개방시켰으며, 그로 인한 세포막의 과분극은 glibenclamide에 의해 역전되었다고 하였다.

만약 흰쥐 배뇨근에 존재하는 ATP 의존성 potassium 통로가 이와 동일한 것이라면 galanin은 본 실험에서도 여타의 potassium 통로 개방제와 유사한 작용을 나타내어 근이완을 유발했을 것이다. 그러나 본 실험의 결과 galanin은 배뇨근 절편의 기본 장력을 오히려 증가시켰다. 여러가지 실험 동물이 평활근에 대한 galanin의 영향을 보면, 가토의 대퇴동맥, 대퇴정맥 및 기저동맥에서는 별다른 영향을 미치지 않았으며, 해명의 기관과 흰쥐의 대동맥, 장관 및 간문맥에서는 수축 현상을 보였고, 개

의 소장에서는 자발 운동을 억제 하였다고 한다.⁴²⁾ 이와 같이 galanin의 다양한 작용을 볼 때, 동물의 종에 따라 또는 장기에 따라 여러가지 유형의 ATP 의존성 potassium 통로가 존재하거나, 또는 ATP 의존성 potassium 통로 이외의 galanin 수용체가 존재할 수도 있다고 생각된다. 본 실험에서는 glibenclamide에 의해 길항되는 potassium통로 개방제의 배뇨근 이완작용을 관찰하였으나 galanin에 의해 기본장력이 증가하였으므로, 흰쥐의 배뇨근에 존재하는 ATP 의존성 potassium 통로는 체계에서 발견된 것들과는 다른 성격의 것이라고 추측된다.

이상의 결과를 종합하면, 흰쥐의 배뇨근에서는 새로운 potassium 통로개방제인 RP 52891의 배뇨근 이완작용이 pinacidil보다 강한 것으로 관찰되었다. 또 흰쥐 배뇨근에는 ATP 의존성이며, glibenclamide 반응성인 potassium 통로가 존재한다고 생각되는데, 이는 체계의 β -세포에 있는 ATP 의존성 potassium 통로와는 다른 특성을 가진 것으로 추측된다.

요 약

흰쥐의 적출 배뇨근에 대한 수종의 potassium 통로개방제의 작용을 관찰하고, 배뇨근에 존재하는 potassium 통로의 특성을 알아보기 위하여 체중 250~350g의 흰쥐(Sprague-Dawley)를 단두하여 희생시킨 후 방광을 적출하였다. 적출된 방광으로부터 1.5mm×1.5cm의 배뇨근 수평절편을 만들어 1ml의 Tyrode 영양액을 포함하는 적출근편실험조에 현수하고 등척성장력을 측정하여 polygraph에 묘기하였다.

배뇨근절편은 potassium 통로 개방제인 pinacidil, BRL 38227 및 RP 52891의 누적농도 첨가에 의하여 그 기본장력이 농도의존적으로 감소하였는데 그 작용강도는 RP 52891, pinacidil 그리고 BRL 38227의 순이었다.

전위 의존성 potassium 통로 봉쇄제인 procaine은 배뇨근 절편의 기본장력에 영향을 미치지 못했으며, pinacidil, BRL 38227 및 RP 52891에 의한 기본장력감소작용에 대해서도 영향을 미치지 못하였다.

칼슘 의존성 potassium 통로봉쇄제인 apamin은 배뇨근의 기본장력에 유의한 변화를 가져오지 못하였고, potassium 통로 개방제들에 대하여는 상경적 길항작용을 나타내지는 않았으나 BRL 38227과 RP 52891의 최고효능을 유의하게 감소시켰다.

ATP 의존성 potassium 통로봉쇄제인 glibenclamide는 배뇨근 절편의 기본장력을 증가시키고, pinacidil을 상경적으로 길항하였으며, BRL 38227과 RP 52891을 상경적으로 길항하는 동시에 그 최대효능을 감소시켰다.

체장의 β -세포에서 ATP 의존성 potassium 통로를 개방시켜 인슐린의 분비를 억제하는 galanin은 흰쥐의 배뇨근을 수축시켰다.

이상의 결과를 종합하면, 흰쥐의 배뇨근에서는 새로운 potassium 통로 개방제인 RP 52891의 배뇨근 이완작용이 pinacidil보다 강한 것으로 관찰되었다. 또 흰쥐 배뇨근에서는 ATP 의존성이며, glibenclamide 반응성인 potassium 통로가 존재한다고 생각되는데, 이는 체계의 β -세포에 있는 ATP 의존성 potassium 통로와는 다른 특성을 가진 것으로 추측된다.

참 고 문 헌

1. Giudicelli JF, Richer C: Potassium channel activators: from pharmacology to therapeutics. *Therapie* 44(6):419-430, 1989.
2. Edwards G, Weston AH: Structure-activity relationships of potassium channel openers. *TIPS* 11(1):417-423, 1990.
3. Ahnfelt-Ronne I: Pinacidil. Preclinical investigations. *Drugs* 36(Suppl):4-9, 1988.

4. Videbaek LM, Aalkjaer C, Mulvany MJ: Vasodilatation with pinacidil. Mode of action in rat resistance vessels. *Drugs* 36(Suppl 7):33-40, 1988.
5. Ahnfelt-Ronne I: Pinacidil: history, basic pharmacology, and therapeutic implications. *J Cardiovasc Pharmacol* 12(Suppl 2):1-4, 1988.
6. McPherson GA, Angus JA: Characterization of responses of cromakalim and pinacidil in smooth and cardiac muscle by use of selective antagonists. *Br J Pharmacol* 100(2):201-206, 1990.
7. Satoh K, Yamada H, Taira N: Differential antagonism by glibenclamide of the relaxant effects of cromakalim, pinacidil and nicorandil on canine large coronary arteries. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 343(1):76-82, 1991.
8. Cook NS: The pharmacology of potassium channels and their therapeutic potential. *TIPS* 9(1):21-28, 1988.
9. Nielsen-Kudsk JE, Mellemkjaer S, Siggaard C, Nielsen CB: Effects of pinacidil on guinea-pig airway smooth muscle contracted by asthma mediators. *Eur J Pharmacol* 157(2-3): 221-226, 1988.
10. Black JL, Armour CL, Johnson PR, Alouan LA, Barnes PJ: The action of a potassium channel activator, BRL 38227 (lemakalim), on human airway smooth muscle. *Am Rev Respir Dis* 142(6 Pt 1):1384-1389, 1990.
11. Berry JL, Small RC, Foster RW: Tracheal relaxation induced by potassium channel opening drugs: its antagonism by adrenergic neuron blocking agents. *Br J Pharmacol* 106(4): 813-818, 1992.
12. Malmgren A, Andersson KE, Sjogren C, Andersson PO: Effects of pinacidil and cromakalim (BRL 34915) on bladder function in rats with detrusor instability. *J Urol* 142(4):1134-1138, 1989.
13. Fujil K, Foster CD, Brading AF, Parekh AB: Potassium channel blockers and the effects of cromakalim of the smooth muscle of the guinea pig bladder. *Br J Pharmacol* 99(4):779-785, 1990.
14. Malmgren A, Andersson KE, Andersson PO, Fovaeus M, Sjogren C: Effects of cromakalim (BRL 34915) and pinacidil on normal and hypertrophied rat detrusor in vitro. *J Urol* 143(4): 828-834, 1990.
15. Grant TL and Zuzack JS: Effects of potassium channel blockers and cromakalim (BRL 34915) on the mechanical activity of guinea pig detrusor smooth muscle. *J Pharmacol Exp Ther* 259(3):1158-1164, 1991.
16. Borcard U, Drouin H: Carticaine: action of the local anesthetic on myelinated nerve fibres. *Eur J Pharmacol* 62(1):73-79, 1980.
17. Stolc S: Comparison of effects of selected local anesthetics on sodium and potassium channels in mammalian neuron. *Gen Physiol Biophys* 7(2):177-189, 1988.
18. Stockbridge N, Zhang H, Weir B: Potassium currents of rat basilar artery smooth muscle cells. *Pflugers Arch* 421(1):37-42, 1992.
19. Arner LS, Stallcup WB: Two types of potassium channels in the PC12 cell line, *Brain Res* 215(1-2): 419-425, 1981.
20. Wong BS, Lecar H, Adler M: Single calcium-dependent potassium channels in clonal anterior pituitary cells. *Biophys J* 39(3):313-317, 1982.
21. Sandberg BE, Ragnarsson U: Solid phase synthesis of apamin, the principal neurotoxin in bee venom. Isolation and characterization of acetamidomethyl apamin. *Int J Pept Protein Res* 11(3):238-245, 1978.
22. Granier C, Pedroso Muller E, Van Rietschoten J: Use of synthetic analogs for a study on the

- structure-activity relationship of apamin. *Eur J Biochem* 82(1):293-299, 1978.
23. Vladimirova IA, Shuba MF: Effect of strychnine, hydrastine and apamin on synaptic transmission in smooth muscle cells. *Neirofiziologiya* 10(3): 295-299, 1978.
 24. Burgess GM, Claret M, Jenkinson DH: Effects of quinine and apamin in the calcium-dependent potassium permeability of mammalian hepatocytes and red cells. *J Physiol(Lond)* 317(8):67-90, 1981.
 25. Jones TR, Charette L, Garcia ML, Kaczorowski GJ: Selective inhibition of relaxation of guinea-pig trachea by charybdotxin, a potent Ca^{++} -activated K^+ channel inhibitor. *J Pharmacol Exp Ther* 255(2):697-706, 1990.
 26. Schmid-Antomarchi H, Amoroso S, Fosset M, Lazdunski M: K^+ channel openers activate brain sulfonylurea-sensitive K^+ channels and block neurosecretion. *Proc Natl Acad Sci USA* 87(9): 3489-3492, 1990.
 27. De Weille J, Schmid-Antomarchi H, Fosset M, Lazdunski M: ATP-sensitive K^+ channels that are blocked by hypoglycemia-inducing sulfonylureas in insulin-secreting cells are activated by galanin a hyperglycemia-inducing hormone. *Proc Natl Acad Sci USA* 85(4):1312-1316, 1988.
 28. Escande D, Thuringer D, Le Guern S, Courteix J, Laville M, Cavero I: Potassium channel openers act through an activation of ATP-sensitive K^+ channels in guinea-pig cardiac myocytes. *Pflugers Arch* 414(6):669-675, 1989.
 29. Adeagbo ASO, Malik KU: Contribution of K^+ channels to arachidonic acid-induced endothelium-dependent vasodilation in rat isolated perfused mesenteric arteries. *J Pharmacol Exp Ther* 258(2):452-458, 1991.
 30. Holzmann S, Kukovetz WR, Braida C, Poch G: Pharmacological interaction experiments differentiate between glibenclamide-sensitive K^+ channels and cyclic GMP as components of vasodilation by nicorandil. *Eur J Pharmacol* 215(1):1-7, 1992.
 31. Tatemoto K, Rokaeus A, Jornvall H, McDonald TJ, Mutt V: Galanin - a novel biologically active peptide from porcine intestine, *FEBS Lett* 164(1):124-128, 1983.
 32. Ahren B, Rorsman P, Berggren PO: Galanin and the endocrine pancreas. *FEBS Lett* 229(2): 233-7, 1988.
 33. Bauer FE: Galanin: a new biologically active gastrointestinal neuropeptide. *Z Gastroenterol* 28(3):160-9, 1990.
 34. Mehnert H, Karg E: Glybenclamide(HB 419): a new oral antidiabetic agent of the sulfonylurea group. *Dtsch Med wochenschr* 94(16):819-824, 1969.
 35. Schwanstecher M, Brandt C, Behrends S, Schaupp U, Panten U: Effect of MgATP on pinacidil-induced displacement of glibenclamide from the sulphonylurea receptor in a pancreatic beta-cell line and rat cerebral cortex. *Br J Pharmacol* 106(2):295-301, 1992
 36. Piper I, Minshall E, Downing SJ, Hollingsworth M, Sadraei H: Effects of several potassium channel openers and glibenclamide on the uterus of the rat. *Br J Pharmacol* 101(4):901-907, 1990.
 37. Andersson KE, Andersson PO, Fovaeus M, Hedlund H, Malmgren A, Sjogren C: Effects of pinacidil on bladder muscle. *Drugs* 36(Suppl 7): 41-9, 1988.
 38. Fovaeus M, Andersson KE, Hedlund H: The action of pinacidil in the isolated human bladder. *J Urol* 141(3):637-640, 1989.
 39. Hedlund H, Mattiasson A, Andersson KE: Effects of pinacidil on detrusor instability in

- men with bladder outlet obstruction. *J Urol* 146(5):1345-1347, 1991.
40. Schmid-Antomarchi H, De Weille J, Fosset M, Lazdunski M: The receptor for antidiabetic sulfonylureas controls the activity of the ATP-modulated K⁺ channel in insulin-secreting cells. *J Biol Chem* 262(33):15840-15844, 1987.
41. Zunkler BJ, Lenzen S, Manner K, panten U, Trube G: Concentration-dependent effects of tolbutamide, meglitimide, glipizide, glibenclamide and diazoxide on ATP-regulated K⁺ currents in pancreatic beta-cells. *Naunyn-Schmiedebergs Arch Pharmacol* 337(2):225-230, 1988.
42. Noma A, Shibasaki T: Membrane current through adenosine-triphosphate-regulated potassium channels in guinea-pig ventricular cells. *J Physiol(London)* 363(12):463-480, 1985.
43. Bacaner MB, Clay JR, Shrier A, Brochu RM: Potassium channel blockade: a mechanism for suppressing ventricular fibrillation. *Proc Natl Acad Sci USA* 83(7):2223-2227, 1986.

-Abstract-

Characteristics of Potassium Channel in the Isolated Rat Detrusor Muscle

Myeong Soo Jang, Eun Me Choi, Jeoung Hee Ha
Kwang Youn Lee, Won Joon Kim

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

The purpose of this study was to investigate the characteristics of the potassium channels existing in the rat urinary bladders.

Smooth muscle strips of rat detrusor urinae were examined by isometric myography. Relaxation responses of detrusor muscle strips to the three potassium channel openers pinacidil, a cyanoguanidine derivative, BRL 38227, a benzopyran derivative and RP 52891, a tetrahydrothiopyran derivative were examined. The potassium channel openers reduced the basal tone, and the rank order of potency was RP 52891 > pinacidil > BRL 38227. Procaine, an inhibitor of the voltage-sensitive potassium channel tended to increase the basal tone, but it did not affect the relaxant effects of the calcium-activated potassium channel opener. It did not antagonize the relaxant effects, but it reduced the E_{max} of RP 52891 and BRL 38227. Glibenclamide, an inhibitor of the ATP-sensitive potassium channel, antagonized the relaxant effects of pinacidil, RP 52891 and BRL 38227 reducing the E_{max} of RP 52891 and BRL 38227. Galanin which inhibits secretion of insulin through opening the ATP-sensitive potassium channels in pancreatic β -cells rather increased the basal tone of the isolated detrusor strips.

These results suggest that the urinary bladder of the rat has mainly the ATP-sensitive, glibenclamide sensitive potassium channel, which is a different type from that in the pancreatic β -islet cells.

Key Words : Potassium Channels, Pinacidil, BRL 38227, RP 52891, Glibenclamide, Apamin, Galanin