기니픽 위 accommodation에 대한 5-hydroxytryptamine$_{1a}$ (5-HT$_{1a}$) 수용체 효현제의 효과

연세대학교 대학원
의 학 과

윤 영 훈

기니픽 위 accommodation에 대한 5-hydroxytryptamine$_{1a}$ (5-HT$_{1a}$) 수용체 효현제의 효과

지도교수 박 효 진

이 논문을 박사 학위논문으로 제출함

2012 년 12 월

연세대학교 대학원

의 학 과

윤 영 훈

윤영훈의 박사 학위논문을 인준함

심사위원 박 효 진 인

심사위원 안 영 수 인

심사위원 이 영 호 인

심사위원 이 광 재 인

심사위원 정 재 호 인

연세대학교 대학원

2012 년 12 월

감사의 글

전임의 시절에 동기들과 비슷한 시기에 시작하였던 박사학위 과정이었지만, 3학기 이후 지방에서 근무하게 되면서 3년, 6학기에 걸쳐 긴 시간 동안 휴학을 하였었고, 뒤늦은 박사 학위 실험을 진행하게 되었습니다. 쉽지 않은 박사 학위 실험을 무사히 마무리하고 이제 논문으로 마무리 지을 수 있게 되어 감회가 새롭습니다.

실험의 계획에서부터 마무리에 이르기까지 많은 가르침과 충고를 아끼지 않으시고, 학위를 마무리할 수 있도록 이끌어 주신 지도교수 박효진 교수님께 진심으로 깊은 감사를 드립니다.

또한 바쁘신 와중에도 실험에 대한 자세한 조언과 지도를 해주신 생리학 교실 이영호 교수님과, 고민과 토론을 함께 하면서 쉽지 않은 동물 실험을 끈기를 가지고 성실하게 도와주신 최은주 연구원에게도 진심으로 감사드립니다.

부모님께서는 아들 삼형제가 모두 박사학위를 받기를 기원하셨었습니다. 박사 학위 취득의 기쁨을 어머님과 함께 나누고 싶습니다. 또한, 지금은 하늘나라에 계시는 아버님께도 막내 아들이 뒤 늦게 박사학위를 받게 되었다는 기쁜 소식을 전하고 싶습니다.

저자 씀

<차례>

국문요약 ····· 1

I. 서론 ····· 3

II. 재료 및 방법 ····· 7

1. 재료 ····· 7

가. 실험 동물 ····· 7

나. 사용 약물 ····· 7

2. 방법 ····· 7

가. 위 조직 5-HT_{1a} 수용체 면역조직화학 염색 ····· 7

나. 저부 윤상근 절편의 전장자극 유도 이완 실험 ····· 9

(1) 장력 측정 실험을 위한 위 저부 윤상근 절편의 제조 ····· 9

(2) 전장자극을 통한 장력의 측정 ····· 9

다. 기니픽 위 저부 풍선 삽입을 통한 *in vivo* 실험 모델 ····· 10

(1) Polyethylene bag의 위내 삽입 수술 ····· 10

(2) 생체 내 위 저부 압력 측정 ····· 12

라. 통계학적 분석 ····· 12

III. 결과 ····· 14

1. 위 부위별 5-HT_{1a} 수용체의 분포에 대한 면역조직화학 염색 ····· 14

2. 위 저부 윤상근 근육 절편에서의 전장자극 유도 이완 실험 ····· 16

3. 기니픽 위 저부 풍선 삽입을 통한 *in vivo* 실험 모델에서
5-HT_{1a} 수용체 효현제 및 길항제 처리의 효과 ····· 21
IV. 고찰 ····· 24
V. 결론 ····· 29
참고문헌 ····· 30
ABSTRACT ····· 35

그림 차례

그림 1. Polyethylene bag의 기니픽 위내 삽입 및 생체 내 위 저부 압력 측정 방법 ·····11
그림 2. 기니픽 위조직의 5-HT_{1a} 수용체에 대한 면역조직화학 염색 ·····14
그림 3. 위 부위 별 장근신경총 및 윤상근 부위 5-HT_{1a} 수용체 면역조직화학 염색 정도의 비교 ·····15
그림 4. 고농도 K^+용액으로 수축시킨 위 저부 윤상근의 전장자극 유도 이완 ·····16
그림 5. Buspirone 농도별 전처치 후의 전장자극 유도 이완의 변화 ·····17
그림 6. 농도 별 8-OH-DPAT 전처치 후의 전장자극 유도 이완의 변화 ·····18
그림 7. WAY-100635 농도 별 전처치 후의 전장자극 유도 이완의 변화 ·····19
그림 8. WAY-100635 단독 처리와 buspirone 전처치 후 WAY-100635 처리 시의 전장자극 유도 이완의 비교 ·····20
그림 9. 위 저부 pressure-volume curve에 대한 5-HT_{1a} 수용체 효현제 buspirone의 효과 ·····22
그림 10. 위 저부 pressure-volume curve에 대한 5-HT_{1a} 수용체 길항제 WAY-100635 및 효현제 buspirone의 효과····23

국문요약

기니픽 위 accommodation에 대한 5-hydroxytryptamine$_{1a}$ (5-HT$_{1a}$) 수용체 효현제의 효과

배경 및 목적: 위 저부가 음식물 섭취 시에 능동적으로 이완하는 기능을 accommodation이라고 하는데, 이 기능의 장애는 기능성 소화불량증의 병인에서 매우 중요하지만, 현재 임상에서 accommodation의 장애를 개선하기 위해 사용할 수 있는 약제는 거의 없다. 임상에서 항불안제로 사용되고 있는 buspirone은 5-HT$_{1a}$ 수용체 효현제로 건강한 성인에서 섭취 가능한 최대량의 물을 마신 후의 증상과 오심을 감소시킨다고 연구 결과가 보고된 바 있고, 5-HT$_1$ 수용체가 위 저부 근육의 이완에 관여한다는 이전의 동물 실험 결과가 있었다. 이에 본 연구에서는 5-HT$_{1a}$ 수용체 효현제가 위 accommodation에 미치는 영향과 그 기전을 기니픽 동물실험을 통해 알아보고자 하였다.

방법: 체중 300-350g 내외 기니픽의 위를 적출하여 전정부, 체부, 저부의 부위별 5-HT$_{1a}$ 수용체의 발현을 알아보기 위해 면역조직화학염색을 시행하였고, 혼합 기체 (95% O_2 + 5% CO_2)로 포화된 실온 Krebs'-Henseleit 용액 내에서 위 저부 윤상근 근육 절편에 대한 *in vitro* 전장자극 유도 이완에 5-HT$_{1a}$ 수용체 효현제와 길항제가 미치는 영향을 평가하였으며, 기니픽 위 저부에 풍선을 삽입한 *in vivo* 모델에서,

5-HT_{1a} 수용체 효현제와 길항제가 위 저부 압력 변화에 미치는 영향을 평가하였다.

결과: 기니픽 위 조직에서 장근신경총 및 윤상근에 5-HT_{1a} 수용체의 발현을 면역조직화학염색을 통해 확인하였다. 윤상근 절편에 대한 전장자극 실험으로 고농도 K^+(25mM)로 수축 시킨 후 atropine과 guanethidine을 처리하여 non-adrenergic & non-cholinergic 조건에서 전장자극을 가하였을 때, 5-HT_{1a} 수용체 길항제 전처리가 위 저부 윤상근의 전장자극 유도 이완을 저해함을 확인할 수 있었고, 5-HT_{1a} 수용체 효현제 buspirone 전처리를 통해 이를 회복시킬 수 있음을 확인하였다. 기니픽 위 저부에 풍선을 삽입하고 위내 압력과 용적을 비교한 *in vivo* 실험을 통해서도 5-HT_{1a} 수용체 효현제가 같은 용적에서의 위내 압력을 감소시키는 효과가 있음을 확인할 수 있었으며, 이러한 위 저부 이완효과가 5-HT_{1a} 수용체 길항제 전처리에 의해 봉쇄됨을 확인할 수 있었다.

결론: 기니픽 동물 실험을 통하여, 5-HT_{1a} 수용체 효현제의 위 저부 이완효과를 확인할 수 있었으며, 이 약제는 아직까지 효과적인 치료약제가 부족한 accommodation 장애를 가진 기능성 소화불량증을 개선시킬 수 있는 가능성이 있는 약제임을 확인할 수 있었다.

핵심되는 말: 기능성 소화불량증, 위 저부 accommodation, 5-HT_{1a} 수용체, buspirone

기니 픽 위 accommodation에 대한 5-hydroxytryptamine$_{1a}$ (5-HT$_{1a}$) 수용체 효현제의 효과

<지도교수 박 효 진>

연세대학교 대학원 의학과

윤 영 훈

Ⅰ. 서론

위(stomach)의 구조를 해부학적으로 구분하면, 근위부에 해당하는 저부(fundus), 중간 부위인 체부(corpus), 그리고 원위부에 해당하는 전정부(antrum)로 나눌 수 있다. 위는 부위별로 다양한 생리적 기능을 담당하는데, 그 중 위의 운동 생리적인 측면에서 위 근위부, 특히 위 저부는 음식물이 유입되었을 때 능동적으로 이완하여, 위내의 압력 증가 없이 위 용적을 증가시킴으로써, 음식물을 일차적으로 저장하는 데에 기여하며 이러한 위 근위부, 특히 위 저부의 능동적인 이완을 accommodation(조절)이라고 한다.[1,2] 위 accommodation은 다시 음식물을 삼킬 때 위 근위부가 약 20초간 이완을 하여 음식물의 저장에 중요한 역할을 담당하게 되는 수용성 이완(receptive relaxation)과, 음식물이 위 내에 들어와서 복부내압이 일시적으로 상승하고 미주신경 반사를 통해 위 근위부 평활근이 이완하게 되는

적응성 이완(adaptive relaxation)으로 구분할 수 있다.[1-4] 이러한 위의 accommodation 기능은 음식물의 섭취에서 일차적 저장을 담당하는 위의 기능에 매우 중추적인 역할을 하기 때문에, 이러한 accommodation 기능의 장애는 식후 상복부 불편감이나 통증을 흔한 증상으로 가지는 기능성 소화불량증(functional dyspepsia)의 매우 중요한 병인 요소 중 하나이며,[5-6] 따라서 위 저부의 accommodation 기능을 호전시켜서 기능성 소화불량증의 치료적 수단을 찾고자 하는 많은 연구들이 이루어져 왔다.[7,8]

위의 accommodation 기능은 위에 분포하는 자율 신경계에 의해 조절되는데, 위에 분포하는 자율 신경계는 아드레날린성 신경, 콜린성 신경 및 비아드레날린성 비콜린성(non-adrenergic, non-cholinergic; NANC) 신경으로 구성된다. 공복 상태의 위 평활근 긴장도는 미주신경(vagus nerve)을 통한 콜린성 신경섬유를 통한 의한 긴장성 영향과 NANC 신경섬유를 통한 억제성 영향의 균형에 의해 유지되는데,[9] 음식물 섭취시의 accommodation은 위벽에 분포하는 NANC 신경섬유의 활성화에 의한 vasovagal reflex에 의해 세로토닌(5-hydroxytryptamine, 5-HT)이 유리되고,[10,11] 최종적으로 산화질소 (nitric oxide, NO) 유리에 의한 nitrergic neuron의 활성화로 인해 일어난다고 알려져 있다.[12-15]

한편, 세로토닌은 현재까지 14개 정도의 다양한 수용체 아형이 알려져 있는데, 위장관 신경계에서 수용체의 각 아형에 따라 위장관의 운동과 분비작용을 조절하는 매우 중요한 신경전달물질로 알려져 있으며, 위장관 질환의 약물치료에 있어서 중요한 표적이 되고 있다.[16,17] 세로토닌 수용체 아형 중에서 위 accommodation 기능과 연관이 있는 것으로 알려진 아형은 5-HT_1, 5-HT_3, 5-HT_4 수용체가 있는데, accommodation의 장애가 기능성 소화불량증의

매우 중요한 병인 요소이기 때문에 이들 수용체를 표적으로 하는 약제들에 대해서 많은 연구들이 이루어졌다. 5-$HT_{1b/d}$ 수용체 효현제로서 편두통의 치료에 사용되는 약제인 sumatriptan 은 위 저부 이완을 유도하는 효과가 알려져 있지만,[18,19] 경구 투여가 불가능하고 생물학적 이용도(bioavailability)의 문제로 임상에서 사용되지 못하였다.[20] 5-HT_3 수용체 효현제인 MKC-733 역시 위 저부 이완을 유도하는 효과가 알려지기는 했지만 오심을 유발하는 단점으로 인해 임상에서 사용되지 않고 있다.[21] 5-HT_4 수용체 효현제인 cisapride와 tegaserod 는 위 저부 이완을 촉진하면서 위배출을 증진시키는 기능성 소화불량증 치료제로서의 이상적인 효과가 알려져 있지만, 심장 부작용으로 인해 현재 임상에서 사용되지 않고 있다.[22,23] 최근에 5-HT_{1a} 수용체 효현제인 R-137696, tandospirone 등의 약제의 위 저부 이완 촉진 효과가 알려지면서, 5-HT_{1a} 수용체 효현제의 위 accommodation 장애에 대한 치료제로서의 효과를 입증하기 위한 임상시험이 이루어지고 있다.[24-26]

Buspirone 역시 5-HT_{1a} 수용체에 대한 부분적 효현제로서 현재 임상에서 주로 불안증 및 우울증의 치료에 흔히 사용되고 있으며, 중추신경계에서 5-HT_{1a} 수용체에 작용하여 불안증의 감소를 유도하는 것으로 알려져 있다. Buspirone이 사람의 위장관의 운동에 미치는 역할에 대한 연구로는 건강한 성인에서 섭취 가능한 최대량의 물을 섭취한 후의 증상과 오심을 감소시킨다는 연구와,[27] 역시 건강한 성인에서 용량-의존적으로 근위부 위를 이완시키고 위배출을 지연시킨다는 연구가 있고,[28] 일부 기능성 소화불량증 환자의 증상을 개선시켰다는 예비 결과가 보고된 바 있지만,[29] 사람에서의 이와 같은 효과의 기전이 중추신경계에 대한 작용에 의한 것인지, 아니면 위장관의 세로토닌 수용체에 의한 것인지는 아직까지 확실하지 않다.

동물을 대상으로 한 실험에서 buspirone이 위 저부의 이완을 유도하는지 여부와 그 기전에 관해서 시행된 연구는 아직까지 많지 않은데, 세로토닌에 의한 기니픽 위 저부의 이완이 5-HT_1 수용체의 활성화를 통한 NO 유리에 의해 나타난다는 연구와,[11,30] buspirone이 5-HT_{1a} 수용체에 대한 부분적 효현제라는 사실로 미루어 볼 때, buspirone에 의한 위의 이완작용에 5-HT_1 수용체 및 nitric oxide가 관여할 것으로 추측할 수 있다.

본 연구에서는 buspirone과 같은 5-HT_{1a} 수용체 효현제가 위저부 근육의 accommodation에 미치는 효과와 기전을 기니픽 동물 실험을 통해 알아봄으로써, 이러한 약제가 아직까지 효과적인 치료방법이 부족한 accommodation 장애를 동반하는 기능성 소화불량증의 치료에 적용될 수 있을 가능성을 평가하고자 하였다.

Ⅱ. 재료 및 방법

1. 재료

가. 실험 동물

체중 300-350g 내외의 기니픽(Hartley guinea pig, 오리엔트 바이오, 경기도, 대한민국)을 암수 구별 없이 사용하였다. 실험 기간 동안의 기니픽의 사육 조건은 23±3°C, 습도 50±20%, 12 시간 주기의 낮/밤 조명 조절을 기본으로 하였고, 먹이와 물의 섭취는 자유로이 하였다. 모든 실험은 연세대학교 의과대학 임상의학연구센터 실험동물부의 동물실험 윤리위원회의 심의 및 권고에 따라 이루어 졌다.

나. 사용 약물

실험에 사용된 약물로서 atropine sulfate, guanethidine, L-NNA (NO synthetase antagonist), 8-OH-DPAT (5HT1a full agonist), WAY-100635 ($5HT_{1a}$ antagonist)은 Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA)로부터 구입하여 사용하였고 buspirone 보령제약 (Seoul, Korea)에서 기부 받아 사용하였다.

2. 방법

가. 위 조직 $5\text{-}HT_{1a}$ 수용체 면역조직화학 염색

기니 픽의 후두부를 강타하여 실신시키고, 경동맥 절단을 통한 방혈로 안락사 시킨 후 개복하여 위를 적출하였다. 적출한 위에서

저부, 체부 및 전정부 부위별로 5 mm × 5 mm 조직 절편을 채취하여, 즉시 4% formaldehyde에 고정하였다. 제작된 paraffin block으로 4 μm 두께의 절편을 만들어 poly-L-lysine-coated slides에 얹고, deparaffinization을 위해 xylene을 사용하여 60°C에서 45분간 탈수한 후 100%, 90%, 70% alcohol을 사용하여 rehydration 시행하였다. 항원을 제거하기 위해 microwave를 사용하여 10분간 가열하고 상온에서 cooling 한 후, 0.1 M phosphate-buffered saline (PBS)으로 세척하였다. 10분 간 3% Hydrogen peroxide로 처리하여 peroxidase blocking 시행하고, 이어서 protein bloking (0.4% Casein in phosphate-buffered saline) 시행하였다. 1차 항체인 anti-5-HT_{1a} receptor antibody(rabbit polyclonal to 5-HT_{1a} receptor, ab79230, Abcam, UK)를 1:1000 희석하여 1시간 동안 배양하고, 30분간 post primary polymer penetration enhancer 시행한 후, 2차 항체로 Anti-mouse/rabbit IgG-Poly-HRP 30분간 처리한 후, Nova Red를 사용하여 발색하고, Hematoxylin을 사용하여 배경 염색을 시행하였다.

면역염색을 시행한 조직은 현미경(ECLIPSE 80i, Nikon Corp., Kanagawa, Japan)으로 관찰하면서 image analysis program(i-Solution, IMT, Daejeon, Korea)을 사용하여 분석하였다. 윤상근 부위에 대한 영상의 분석은 semi-quantitive method로 시행하였는데, 400배 시야 하에서, 위 각 부위 별 절편의 윤상근 부위 900 μm^2(30㎛×30㎛)의 단위 면적 당 발색 정도를 비교 평가하였다.

나. 저부 윤상근 절편의 전장자극 유도 이완 실험

(1) 장력 측정 실험을 위한 위저부 윤상근 절편의 제조

기니 픽의 후두부를 강타하여 실신시키고, 경동맥 절단을 통한 방혈로 안락사 시킨 후 개복하여 위를 적출하였다. 적출한 위는 실온에서 혼합기체(95% O_2 + 5% CO_2)로 포화된 Krebs'-Henseleit 용액(K-H 용액; D-glucose 11 mM; KCl 4.7 mM; KH_2PO_4 1.2 mM; $MgSO_4$ 1.2 mM; NaCl 119 mM; $NaHCO_3$ 25 mM; $CaCl_2$ 2.5 mM)이 채워진 용기 내에서 위 저부를 분리 절제하고 소만부위를 따라 절개하여 위점막을 노출시켰다. 이후 현미경 시야 하에서 미세용 수술기구를 이용하여 점막층을 박리하고 윤상근의 표면이 노출되도록 깨끗이 분리하여, 윤상근의 주행방향으로 길이 10 mm, 너비 3 mm 의 근육절편을 만들었다.[31]

(2) 전장자극을 통한 장력의 측정

상기의 방법으로 분리한 위 저부 윤상근의 근육절편을 혼합기체가 충분히 공급되고 온도가 37°C 로 유지되는 K-H 용액으로 채운 50ml chamber 내부의 2 개의 백금판 사이에 위치시키고, 근육 절편의 한쪽 끝은 chamber 하단의 metal rod 에, 다른 한쪽 끝은 strain gauge transducer 에 연결하여 등척성 장력을 physiograph(Grass, Quincy, MA, USA)에 기록하였다.[31]

근육절편은 1 gram 의 기초장력을 가하여 최소 60 분간 온도 및 흥분성이 일정해질 때까지 평형을 유지한 후 25 mM 의 고농도 K^+용액(K-H 용액의 조성 중 K^+의 농도를 25 mM 되게 Na^+의 농도를 감소시킨 용액)으로 수축을 유도하였다. 콜린성 및 아드레날린성 신경전달을 차단하여 NANC 조건을 유도하기 위해

atropine 5×10^{-5}M 과 guanethidine 5×10^{-5}M 을 첨가한 후, 30 분 이상 평형을 유지하여 수축고가 일정하게 되었을 때 전장자극을 통한 이완 유도 실험을 진행하였다. 전장자극은 전기자극기(Grass, Quincy, MA, USA)를 통해 rectangular wave(95 V, 10 Hz, 4 msec)의 자극을 백금판에 전달하여 시행하였다.

5-HT_{1a} 수용체 효현제 및 길항제 전처리가 전장자극 유도 이완에 미치는 영향과 기전을 평가하기 위한 5-HT_{1a} 수용체 효현제 buspirone 및 8-OH-DPAT, 5-HT_{1a} 수용체 길항제인 WAY-100635, NO synthetase 억제제인 L-NNA 의 전처리 시에는 각 약물의 전처리 후 최소 15 분간의 평형 기간 뒤에 다음 전장자극을 진행하였다. 각 농도마다 최소 1 분 이상의 간격으로 5 회 이상의 전장자극을 시행하여 각 전장자극에 의해 유도되는 이완 정도의 개체 별 평균치를 구하였다. 근 이완 정도의 비교 평가는 고농도 K^+ 용액과 atropine, guanethidine 만을 처리한 NANC 기저 상태의 전장자극 이완 평균 수치에 대하여, 실험약물 처치 후의 이완 정도를 백분율로 비교 평가하였다.

다. 기니픽 위 저부 풍선 삽입을 통한 *in vivo* 실험 모델

(1) Polyethylene bag 의 위내 삽입 수술

기니픽 위 내부에 삽입하는 풍선은 0.01 mm 두께의 polyethylene 비닐을 사용하여 최대용적 14 ml, 지름 3cm 크기로 제작하였고, 이 풍선에 polyethylene tube(PE-60; BD Biosciences, Franklin Lakes, NJ, USA)를 연결하였다. 기니픽을 18 시간 동안의 금식시킨 후 sodium pentobarbital(30 mg/kg i.p.)을 사용하여 마취 상태를 유도하고, 복부 정중선을 따라 4 cm 가량의 복벽 절개를 시행하여

위를 노출 시켰다. 위 원위부에 purse string suture 를 시행한 후, purse string suture 의 중앙부를 절개하여 풍선 카테터를 위저부에 삽입한 후 봉합하였고, polyethylene tube 는 우하복부 복벽으로부터 피하 터널을 통해서 목 뒤쪽으로 배출시켜 고정하였다(그림 1).[32]

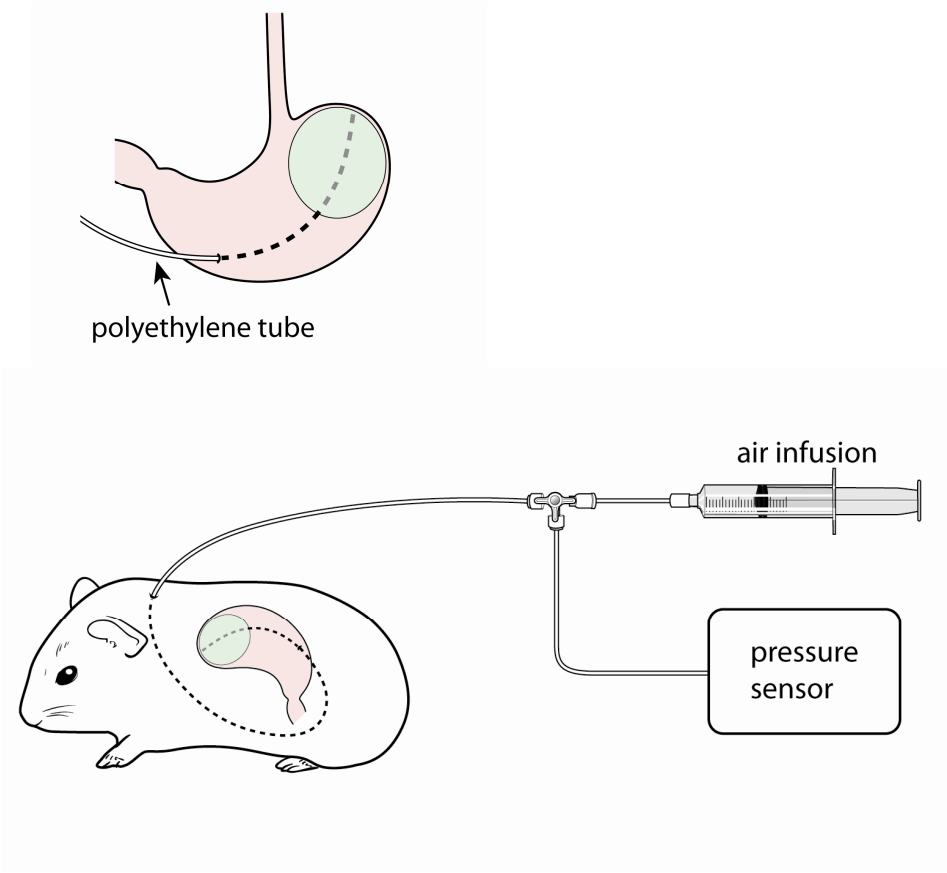

그림 1. Polyethylene bag 의 기니픽 위내 삽입 및 생체 내 위 저부 압력 측정 방법

(2) 생체 내 위 저부 압력 측정

풍선 삽입 수술 후 7 일간의 회복 기간을 거친 기니픽을 대상으로 18 시간의 금식을 시행한 후 깨어있는 상태에서 위내 압력 측정 실험을 시행하였다. 위 저부에 삽입된 풍선에 연결된 polyethylene tube 에 압력측정기(KENT Scientific, USA)를 연결한 후 syringe pump 를 사용하여 분당 2 ml 의 속도로 공기를 주입하였다. 풍선에 공기를 1, 2, 4, 6, 8 ml 까지 단계적으로 주입하는 동안, 각 단계의 용적에서 30초간 공기 주입을 중단하고 위내 압력을 측정하였다(그림 1). 한번의 실험은 15 분의 휴식기를 가지고 3-4 회 반복하였는데, 첫번째 풍선 팽창은 위 저부에 접혀져 있을 수 있는 polyethylene 풍선을 펴기 위해서 시행되었고, 두번째 풍선 팽창은 vehicle 투여 후에, 세번째 및 네번째 풍선 팽창은 실험 약물의 전처치 후에 평가하였다.[32]

실험약제로 buspirone 은 1 mg/kg 을 0.5 cc 에 용해시켜 경구 sonde 를 통해 위내로 투여하였고, WAY-100635 는 0.5 mg/kg 을 1 cc 에 용해시켜 복강 내로 주사하였으며, 각 실험 약제 투여 후에는 30 분 후에 풍선 팽창 실험을 진행하였다. 실험이 종료된 기니픽은 안락사 시킨 후 개복하여 풍선 카테터가 위 저부에서 이탈되어 있지 않았는지를 확인하였으며, 위 저부에서 풍선 카테터가 이탈된 기니픽의 실험 결과는 분석에서 제외하였다.

라. 통계학적 분석

면역조직화학염색 결과의 단위 면적당 발색 정도 백분율로, 전장자극에 의한 근이완 백분율 및 위 저부 압력은 mean ± SE 로 표기하였다. 결과의 비교는 개체 별 평균치를 paired sample *t*-test 로

비교하여 통계 검정하였으며, p 값이 0.05 미만인 경우를 통계적으로 유의하다고 판정하였다.

Ⅲ. 결과

1. 위 부위별 5-HT1$_a$ 수용체의 분포에 대한 면역조직화학 염색

총 6 마리의 기니픽에서 위 조직을 전정부, 체부, 저부의 각 부위별로 채취하여 5-HT$_{1a}$ 수용체에 대한 면역조직화학 염색을 시행하였고, 각 부위에서 5-HT$_{1a}$ 수용체의 염색을 확인할 수 있었다(그림 2).

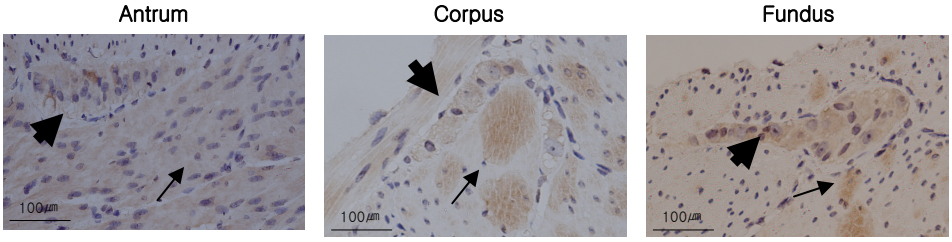

그림 2. 기니픽 위조직의 5-HT$_{1a}$ 수용체에 대한 면역조직화학 염색. 400 배율 현미경 사진으로 굵은 화살표는 장근신경총, 가는 화살표는 윤상근의 5-HT$_{1a}$ 수용체 염색을 나타내고 있다.

장근신경총(myenteric plexus)과 윤상근 부위의 5-HT$_{1a}$ 수용체의 발현 정도를 단위 면적당 면역조직화학 염색의 발색 정도 백분율(%)로 분석하였다(그림 3). 부위별 장근신경총의 5-HT$_{1a}$ 수용체의 염색 정도는 전정부 21.67 ± 4.26%, 체부 22.60 ± 3.74%, 저부 23.27 ± 4.79%로 부위별 차이를 보이지 않았고, 윤상근에서의 염색 정도는 전정부 16.87 ± 3.66%, 체부 14.84 ± 1.66%, 저부 6.17 ± 1.10%로 저부 윤상근에서는 다른 부위 윤상근에 비해

유의하게 5-HT_{1a} 수용체의 염색 발현 정도가 유의하게 낮았다($p<0.01$). 5-$HT1_a$ 수용체의 염색 정도는 위의 각 부위에서 장근신경총에서 윤상근에 비해 전반적으로 높게 나타났다(그림 3).

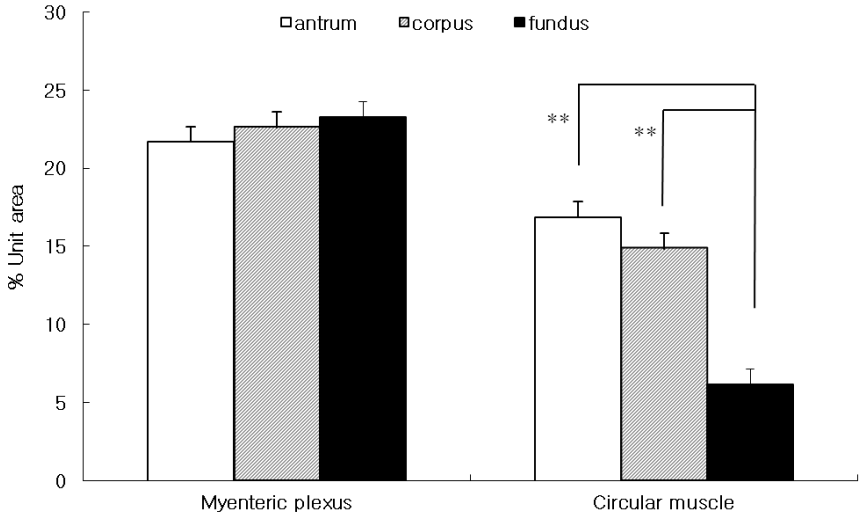

그림 3. 위 부위 별 장근신경총 및 윤상근 부위 5-HT_{1a} 수용체 면역조직화학 염색 정도의 비교.

그래프의 값은 단위면적당 면역염색 발색의 백분율을 나타내었다(% of unit area, mean ± SE). 전체적으로 모든 위 부위에서 윤상근 부위에 비해 장근신경총 부위에서 면역염색의 발현이 높았고, 위 저부 윤상근의 경우에는 타 부위 윤상근에 비해 면역염색 발현이 유의하게 낮았다(**$p<0.01$, n=6)

2. 위 저부 윤상근 근육 절편에서의 전장자극 유도 이완 실험

위 저부 윤상근 절편을 K-H 용액으로 채운 50mL chamber 내에서 2 개의 백금판 사이에 위치시키고, 25 mM 의 고농도 K^+용액으로 수축을 유도한 후 atropine 과 guanethidine 전처리 한 NANC 자극조건에서 rectangular wave 전장자극(95 V, 10 Hz, 4 msec)을 시행하여 그림 4 과 같은 근이완을 확인할 수 있었다(그림 4).

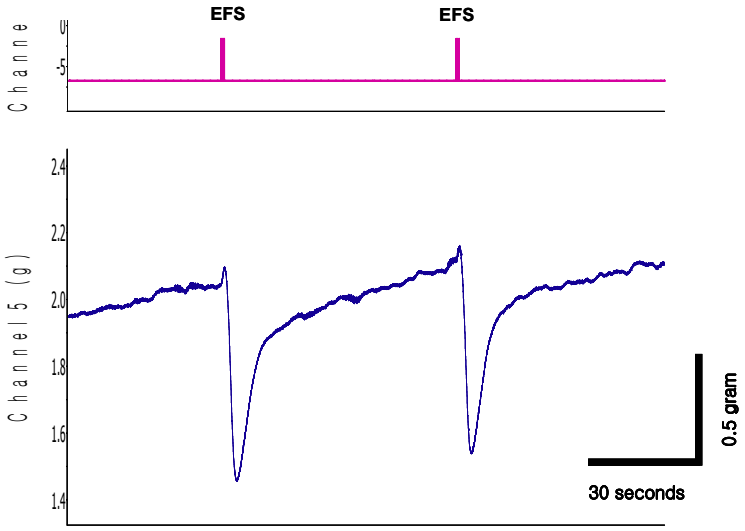

그림 4. 고농도 K^+용액으로 수축시킨 위 저부 윤상근의 전장자극 유도 이완

고농도 K^+용액(25mM)으로 수축을 유도한 후 atropine 과 guanethidine 으로 전처리 한 NANC 조건에서 rectangular wave 전장자극을 (95 V, 10 Hz, 4 msec) 시행하여 저부 윤상근의 이완을 측정하였다.

5-HT_{1a} 수용체 효현제인 buspirone 농도를 단계적으로 증가시키는 전처리를 시행하면서, 전장자극을 시행하였을 때(n=8), control 기저 이완 정도에 비교하여 buspirone 10^{-9}M 에서 87.66 ± 13.85%, 10^{-8}M 에서 95.07 ± 22.18%, 10^{-7}M 에서 100.51 ± 17.04%, 10^{-6}M 에서 94.40 ± 19.37% 의 이완을 보여, buspirone 전처리에 따른 통계적으로 의미 있는 전장자극 유도 이완의 변화는 확인할 수 없었다(그림 5).

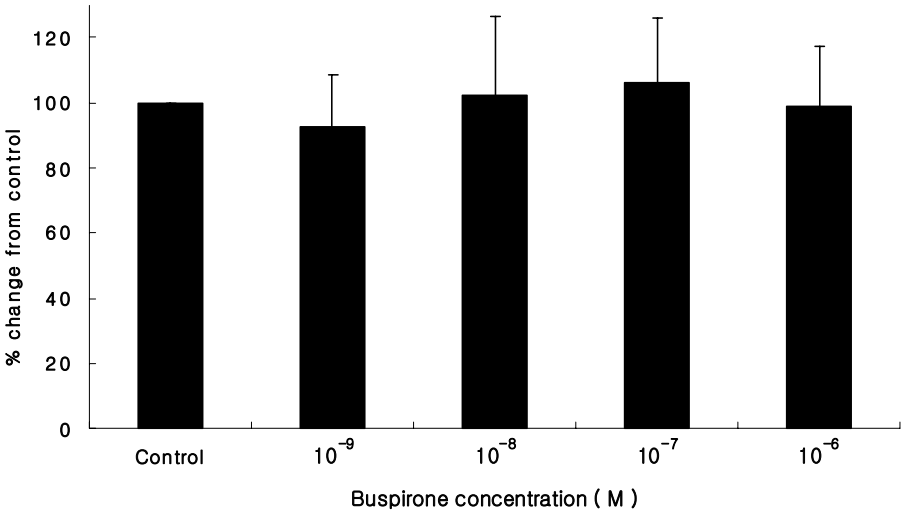

그림 5. Buspirone 농도별 전처치 후의 전장자극 유도 이완의 변화.

이완 정도는 control 기저 상태에서의 전장자극 이완 정도에 비한 buspirone 농도 별 전처치 후의 이완 정도의 백분율로 평가하여 mean ± SE 로 표시하였다(n=8).

5-HT_{1a} 수용체 full agonist인 8-OH-DPAT 농도를 단계적으로 증가시키는 전처리를 시행하고 전장자극을 시행하였을 때(n=4), control 기저 이완 정도에 비교하여 8-OH-DPAT 10^{-9}M에서 90.91 ± 15.02%, 10^{-8}M에서 87.92 ± 16.18%을 보여 변화가 없었지만, 10^{-7}M에서는 78.88 ± 14.91% 의 이완을 보여, 10^{-7}M 전처치에서 control 기저 상태에 비해 전장자극 유도 이완이 오히려 감소됨을 확인할 수 있었다(p<0.05) (그림6).

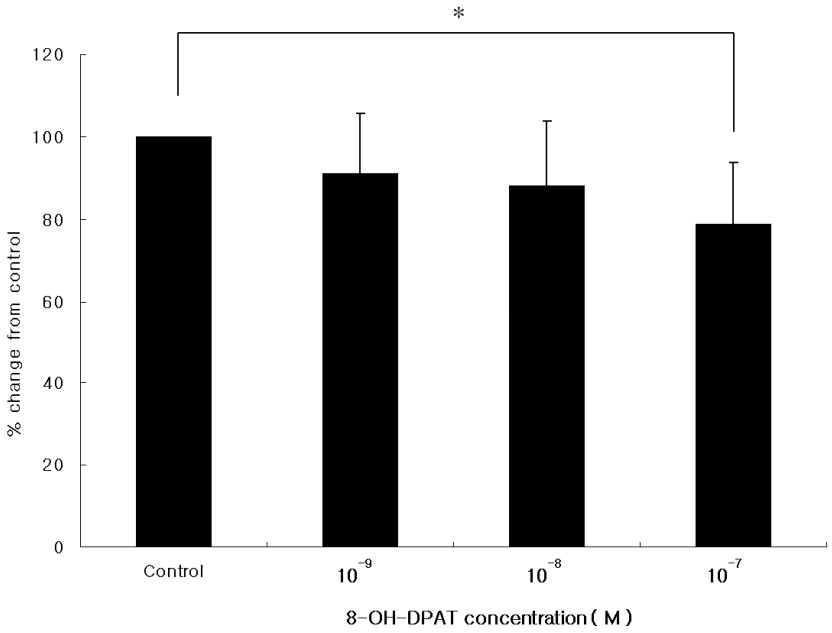

그림 6. 농도 별 8-OH-DPAT 전처치 후의 전장자극 유도 이완의 변화.

이완 정도는 control 기저 상태에서의 전장자극 이완 정도에 비한 약물 전처치 후의 이완 정도의 백분율로 평가하여 mean ± SE 로 표시하였다. 10^{-7}M 전처치에서 control 기저 상태에 비해 전장자극 유도 이완이 감소됨을 확인할 수 있었다. (*p<0.05, n=4)

5-HT_{1a} 수용체 길항제인 WAY-100635 농도를 단계적으로 증가시키는 전처리를 시행하고 전장자극을 시행하였을때(n=6), control 기저 이완 정도에 비교하여 1 μM (10^{-6}M) 에서 85.04 ± 12.72%, 3 μM에서 70.64 ± 15.05%, 10 μM(10^{-5}M) 에서 36.57 ± 7.96% 로 이완이 감소하여, WAY-100635에 의하여 용량-의존적으로 전장자극 유도 이완이 저해되는 것을 확인할 수 있었다(p<0.01). NO synthetase 억제제인 L-NNA (1x10^{-4}M) 전처리를 시행하였을 때에는 전장자극 이완이 거의 완전히 봉쇄되었다(그림7).

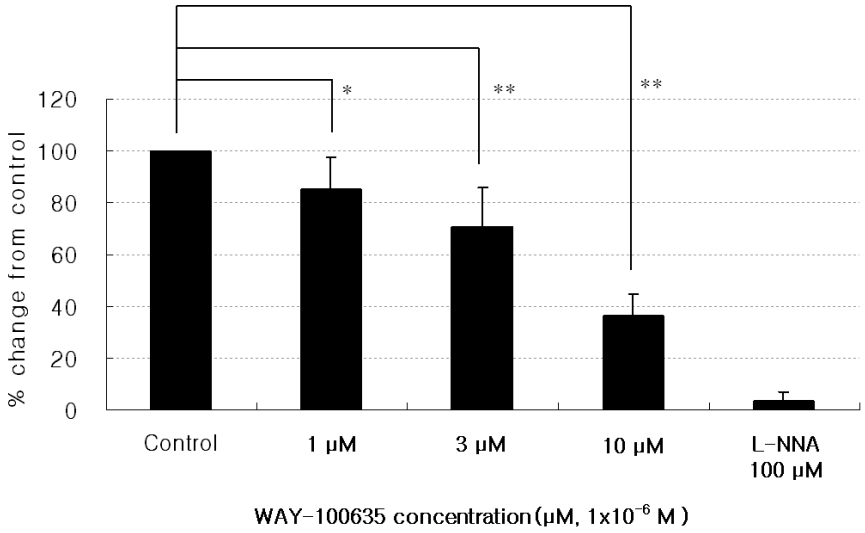

그림 7. WAY-100635 농도 별 전처치 후의 전장자극 유도 이완의 변화. 이완 정도는 control 기저 상태에서의 전장자극 이완 정도에 비한 약물 전처치 후의 이완 정도의 백분율로 평가하여 mean ± SE 로 표시하였다. 5-HT_{1a} 수용체 길항제인 WAY-100635 는 용량-의존적으로 control 기저 상태에 비해 위 저부의 전장자극 유도 이완을 저해하였다. (*p<0.05, **p<0.01, n=6)

5-HT_{1a} 수용체 길항제 WAY-100635의 위 저부 전장자극 유도 이완 억제 효과에 대한, 5-HT_{1a} 수용체 효현제 전처리의 영향을 평가하기 위하여, WAY-100635 단독 전처리 후의 전장자극 유도 이완과 buspirone 1X10^{-7}M 을 전처리 한 후에 WAY-100635을 농도별로 전처리 하였을 때의 전장자극 유도 이완을 비교하였다. 그 결과 WAY-100635에 의한 위 저부 전장자극 유도 이완의 용량-의존적 억제를, buspirone 1X10^{-7}M 전처리가 통계적으로 유의하게 회복시킴을 확인할 수 있었다 (그림 8).

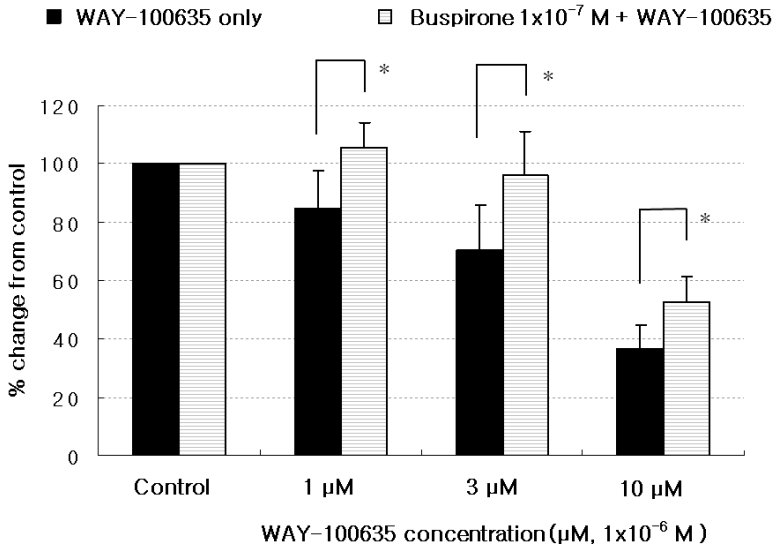

그림 8. WAY-100635 단독 처리와 buspirone 전처치 후 WAY-100635 처리 시의 전장자극 유도 이완의 비교.

WAY-100635 단독 처리 시에 용량-의존적으로 전장자극 유도 이완이 감소하는 것이 확인되지만, buspirone 1X10^{-7}M 전처리 후에 WAY-100635 처리 하였을 때에는 WAY-100635 단독 전처리 시에 비해 이완의 저해 효과가 유의하게 상쇄되었다($*p<0.05$, n=6).

3. 기니픽 위 저부 풍선 삽입을 통한 in vivo 실험 모델에서 5-HT_{1a} 수용체 효현제 및 길항제 처리의 효과

위 저부에 풍선을 삽입하는 수술을 받은 기니픽을 대상으로 수술 7 일째에 18 시간 금식을 시행한 후 위 저부에 삽입된 풍선에 syringe pump 로 공기를 주입하면서 압력을 측정하여 pressure-volume curve 를 구하였다. 경구 sonde 를 통해 vehicle 을 전처리 하였을 때, 각 위 용적에서의 위 저부 압력은 1, 2, 4, 6, 8 ml 에서 각각 1.96±0.67, 2.76±0.51, 4.15±0.55, 4.78±0.59, 6.33±0.43 mmHg 였고, 5-HT_{1a} 수용체 효현제인 buspirone 1 mg/kg 을 30 분 전에 경구로 전처리한 후에는 1, 2, 4, 6, 8 ml 에서 각각 0.79±0.28, 1.35±0.39, 1.49±0.45, 3.16±0.39, 4.98±0.47 mmHg 로서, vehicle 에 비하여 buspirone 전처리한 후에 같은 용적에서의 위 저부 압력이 통계적으로 유의하게 감소하였다. 즉 buspirone 이 같은 용적에서의 위 저부 압력을 유의하게 감소시키는, 위 저부 이완효과를 보이는 것을 확인 할 수 있었다 (n=5, 그림 9).

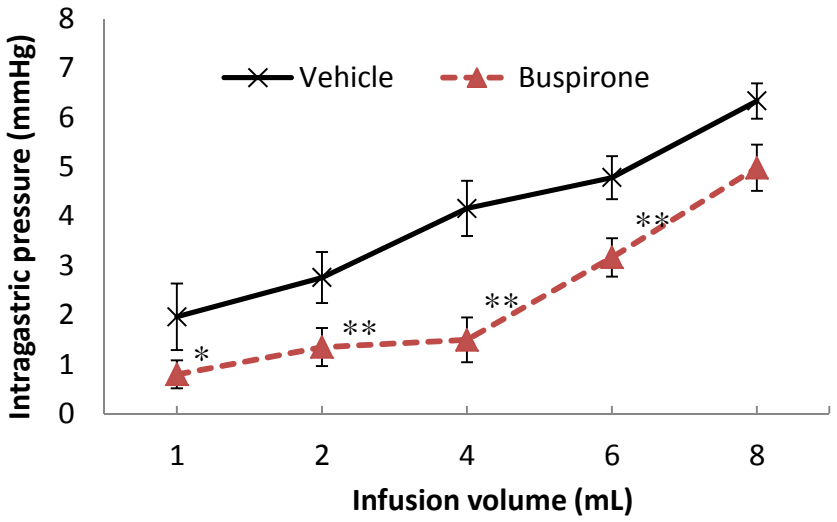

그림 9. 위 저부 pressure-volume curve 에 대한 5-HT_{1a} 수용체 효현제 buspirone 의 효과.

buspirone 1 mg/kg 전처리 시에 vehicle 투여 시에 비해, 각 위용적에서의 위 저부 압력이 통계적으로 유의하게 감소하였다. (*p<0.05, ** p<0.01, n=5)

반면 5-HT_{1a} 수용체 길항제인 WAY-100635 를 복강 내에 0.5mg/kg 주사하여 전치리 시행한 후에 buspirone 을 투여하였을 때에는, buspirone 에 의한 위 저부 압력 감소 효과가 봉쇄됨을 확인할 수 있었다(n=5, 그림 10).

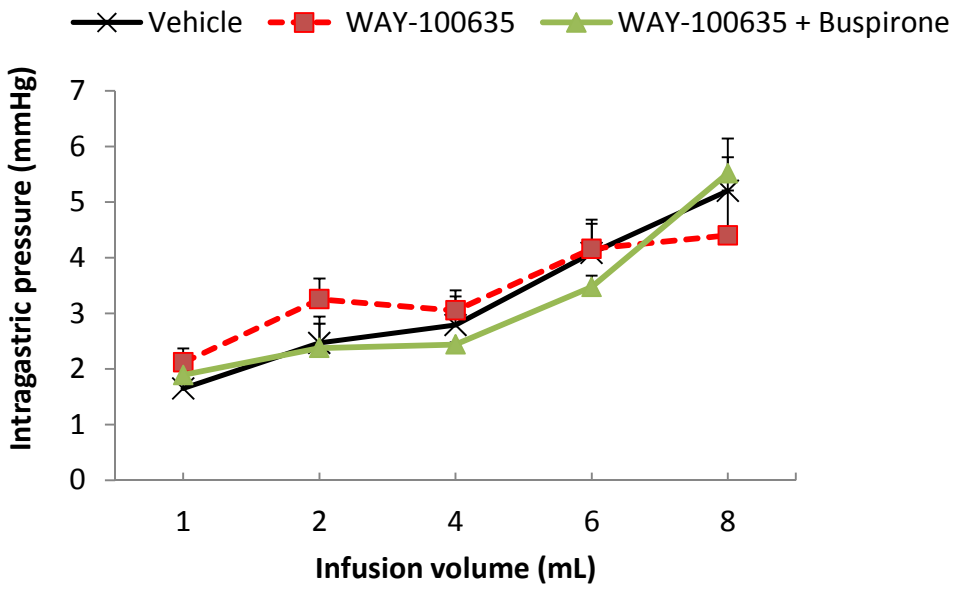

그림 10. 위 저부 pressure-volume curve 에 대한 5-HT_{1a} 수용체 길항제 WAY-100635 및 효현제 buspirone 의 효과.

WAY-100635 를 0.5mg/kg 복강내 주사로 전처리 하였을 때에는 buspirone 투여에 의한 위 저부 압력 감소 효과가 봉쇄됨을 확인할 수 있었다(n=5).

Ⅳ. 고찰

본 연구에서는 크게 세가지 범주의 실험을 진행하였는데, 기니픽 위 조직에 대한 5-HT_{1a} 수용체 면역조직화학염색, 기니픽 위 저부 윤상근 절편을 사용한 *in vitro* 전장자극 유도 이완 실험, 그리고 위 저부 풍선 삽입 수술을 통한 위내 압력 측정 *in vivo* 실험을 시행하였다.

첫 번째로 시행한 기니픽 위 조직의 5-HT_{1a} 수용체 면역조직화학 염색 실험에서는 기니픽 위 조직 장근신경총과 윤상근 내에 5-HT_{1a} 수용체가 발현하고 있음을 확인할 수 있었다. 일반적으로 5-HT_{1a} 수용체는 위 저부 이완에 관여하는 것으로 알려져 있기는 하지만, 여러 가지 다양한 세로토닌 수용체 subtype의 발현은 동물 종별로, 또한 장관 부위에 따라 다른 것으로 알려져 있고,[3,12] 이전에 기니픽 위저부에 5-HT_{1a} 수용체가 존재하는지를 확인한 연구가 없었기 때문에, 위 저부 accommodation에 대한 5-HT_{1a} 수용체의 역할에 대한 연구의 동물실험 모델로 기니픽이 적합한 동물 종인지에 대해서 확신 할 수는 없었다. 그러한 이유로 본 연구에서 기니픽 위 조직의 5-HT_{1a} 수용체 면역 염색을 첫번째로 시행하였고, 결과적으로 기니픽의 위 저부를 포함한 위 조직에 5-HT_{1a} 수용체가 발현함을 확인할 수 있었다. 기니픽 위의 5-HT_{1a} 수용체의 발현 정도는 장근신경총에서는 전정부, 체부, 저부에 따라 차이가 없었지만, 윤상근에서는 저부에서 발현 정도가 유의하게 낮음을 확인할 수 있었는데, 이는 위 저부가 타 부위와는 다르게 음식물 섭취에 대한 능동적 이완, 즉 accommodation이라는 독특한 성질을 가지고 있는 것과 연관이 있을 것으로 추측할 수 있지만, 위 저부 윤상근에

5-HT_{1a} 수용체가 적게 발현되는 정확한 생리적 기전에 대해서는 추가적인 연구가 필요하다고 생각된다.

두 번째로 시행한 기니픽 위 저부 윤상근 절편을 사용한 *in vitro* 전장자극 유도 이완 실험에서는 5-HT_{1a} 수용체 길항제 전처리가 accommodation을 대변하는 전장자극 유도 이완을 유의하게 저하시킴을 확인할 수 있었고, 이러한 감소를 5-HT_{1a} 수용체 효현제 전처리로 봉쇄할 수 있음을 확인하였다. 또한 NANC 조건에서 전장자극에 의해 유도되는 위 저부 윤상근의 이완이 NO synthetase 억제제인 L-NNA를 처리하였을 때 완전히 봉쇄됨을 확인함으로써 nitric oxide가 위 저부 accommodation의 기전에 매우 중요한 역할을 한다는 기존의 연구 결과와[12-15] 부합하는 실험결과를 얻을 수 있었다. 원래의 실험 계획은 5-HT_{1a} 수용체 효현제가 위 accommodation을 개선시킬 수 있는 약제임을 증명하기 위해서 control 기저 상태에 비해 5-HT_{1a} 수용체 효현제 처리로 전장자극 유도 이완이 항진됨을 확인해 보고자 하였지만, 본 연구의 실험에서는 5-HT_{1a} 수용체 효현제 처리가 기저 control 상태에 비해 전장자극 유도에 의한 이완을 항진시키는 효과를 확인할 수는 없었다. 이에 대해서는 다음과 같은 고찰이 가능하다고 생각된다. 전장자극 실험은 자극 조건의 wave 모양, 강도, 시간, 주파수 등의 변화에 따라서, 유도되는 이완 효과가 매우 예민하게 변화한다. 따라서 저자들은 본 연구의 예비 실험으로, 적절한 전장자극 실험의 자극조건을 결정하기 위하여 다양한 주파수, 자극 시간과 강도로 전장자극을 시행하는 예비 실험을 시행하였고, 기니픽 위 저부 윤상근 절편에서 최대한의 이완효과를 유도할 수 있었던 95 V, 10 Hz, 4 msec의 전장자극 조건을 최종 실험 조건으로 결정하였었다. 하지만

이와 같이 최대한의 이완 효과를 유도할 수 있었던 전장자극 실험 조건을 정하였기 때문에, 어떠한 효현제 처리를 통해서도 그보다 더 좋은 이완 효과를 확인하기 어려웠을 가능성이 있다고 생각된다. 즉 전장자극을 통한 위 저부 윤상근의 이완효과는 NANC 신경의 nitrergic 신경섬유 말단에서 NO가 유리되어 일어나게 되는데,[12-15] 여러 가지 다양한 강도 및 주파수의 전장자극 조건 중에서 최대한의 이완효과가 유도되는 조건을 정하였다는 것은, 최종 단계의 NO 유리가 최대한으로 유도되는 조건이었다는 의미일 것이고, 이러한 조건에서는 어떠한 효현제 처리를 시행함으로써 NO의 유리를 더 이상 증가시키거나 이완효과를 더 이상 항진시키는 것이 불가능할 수 있다고 생각된다. 5-HT_{1a} 수용체 full agonist인 8-OH-DPAT를 전처리한 실험에서는 용량-의존적이지는 않았지만 고농도 전처리(10^{-7}M)에서 기저 상태에 비해 전장자극 유도 이완이 오히려 감소되는 결과도 있었는데, 이는 5-HT_{1a} 수용체에 의한 약리적 효과의 가능성 보다는, 농도 증가에 따른 비특이적 부작용에 의한 것으로 판단된다. 5-HT_{1a} 수용체 길항제가 위 저부 윤상근의 전장자극 유도 이완을 용량-의존적으로 유의하게 저해함을 확인할 수 있었고, 5-HT_{1a} 수용체 효현제인 buspirone이 5-HT_{1a} 수용체 길항제의 accommodation 저해 효과를 막을 수 있음을 확인할 수 있었기 때문에, 5-HT_{1a} 수용체가 위 저부 accommodation에 대한 분명한 역할을 가지고 있음을 알 수 있었다.

윤상근 절편에 대한 *in vitro* 전장자극 실험이 각종 효현제, 길항제 전처리가 용이하여 기전에 관한 예측에 유용하기는 하였지만, 생체 내 조건과 달리 위에 분포하는 미주 신경을 포함한 신경섬유가 절단된 상태라는 점에서 생체 내에서의 accommodation을 정확히

반영한다고 할 수 없기 때문에, 세 번째로 *in vivo* 실험을 추가하였다. 세 번째 *in vivo* 실험에서는 위 저부에 풍선을 삽입하는 수술을 시행하고 회복시킨 기니픽을 대상으로 5-HT_{1a} 수용체 효현제 buspirone을 투여하였을 때 같은 용적에서의 위내 압력을 감소시키는 효과를 확인할 수 있었고, 이러한 효과는 길항제인 WAY-100635에 의해 봉쇄됨을 확인할 수 있어서, buspirone이 *in vivo* 모델에서도 5-HT_{1a} 수용체 효현 작용을 통해 위 저부 이완을 항진시킨다는 결과를 확인할 수 있었다. 이러한 생체내 위 저부 이완효과의 기전은 이전의 연구들의 결과로 미루어 볼 때 nitrergic 신경에서의 NO 유리 증가에 의한 것일 가능성이 높지만,[12-15] 기전에 대한 후속 연구가 필요하다고 판단된다. 즉, 5-HT_{1a} 효현제의 위 저부 이완효과에 nitrergic 신경과 콜린성 신경이 각각 차지하는 역할을 구분해 보기 위해 위저부 압력측정 실험 전에 atropine과 같은 콜린성 신경 차단제 또는 L-NNA 또는 L-NAME와 같은 NO synthetase 억제제 전처리가 5-HT_{1a} 효현제의 위 저부 이완효과에 미치는 상호 영향을 분석해 보는 것도 흥미로울 것으로 생각된다. 하지만 현재까지의 연구결과만으로도, 깨어있는 생체내 실험모델에서 5-HT_{1a} 수용체 효현제가 위 저부 이완효과를 가지는 것을 확인한 결과는 5-HT_{1a} 효현제가 accommodation 장애를 가진 기능성 소화불량증 환자의 치료에 적용될 수 있는 가능성이 있는 약제임 제시하는 충분한 결과라고 생각된다.

서론에서도 전술하였듯이 위 저부의 accommodation 장애는 음식물 섭취 시에 위의 이완 장애를 유발하여 기능성 소화불량증의 중요한 병인이 된다.[5-8] 하지만 현재 임상에서 사용되고 있는 기능성 소화불량증에 대한 치료 약제 중에서 위 accommodation 장애를

호전시킬 수 있는 약제는 거의 없는 것이 현실이다. 이전에 위 accommodation을 호전시킬 수 있음이 확인되었던 5-HT_4 수용체 효현제 cisapride와 tegaserod는 심장 부작용 때문에 사용할 수 없게 되었고,[22,23] sumatriptan과 같은 5-$HT_{1b/d}$ 수용체 효현제는 실험적으로는 accommodation을 호전시킬 수 있음이 확인되지만 경구투여가 불가능한 약제이기 때문에 임상에 적용되지 못하고 있다.[18-20] 따라서 5-HT_{1a} 수용체 효현제가 향후 accommodation 장애를 가지는 기능성 소화불량증을 호전시킬 수 있는 흔치 않은 약제가 될 수 있을 가능성이 있기 때문에 본 연구를 시행하였었고, 비교적 긍정적인 결과를 얻었다고 생각된다. 그러나 buspirone은 이전의 적은 수의 건강자원자를 대상으로 하는 연구에서 위내 압력을 감소시키는 효과가 확인되었지만, 위배출 역시 지연시키는 효과가 있음이 보고된 바 있기 때문에,[28] 위배출 장애를 동반하는 기능성 소화불량증 환자에게 적용하는데 있어서는 신중함이 필요하다고 생각된다. 최근에 비슷한 약리기전을 가지는 5-HT_{1a} 수용체 효현제인 tandospirone이 기능성 소화불량증 환자에 대한 임상시험에서 증상 개선 효과가 있음이 보고되었다는 점에서[26] buspirone 역시 기능성 소화불량증 환자에게 효과가 있는 약제가 될 수 있는 가능성이 있다고 판단되며, 이러한 가능성을 검증하기 위해서는 향후 기능성 소화불량증 환자를 대상으로 하는 다기관, 전향적인 임상 연구가 필요하다고 생각된다.

Ⅴ. 결론

기니픽을 대상으로 한 본 동물실험 연구의 결과로

첫째, 5-HT_{1a} 수용체에 대한 면역염색을 통해 5-HT_{1a} 수용체가 기니픽 위 부위별 윤상근과 장근신경총에 발현됨을 확인함으로써, 기니픽이 위 저부 accommodation에서 5-HT_{1a} 수용체의 역할과 기전을 알아보기 위한 동물 실험 모델로서 적합한 동물 종이라는 것을 확인할 수 있었고,

둘째, *in vitro* 실험을 통해 5-HT_{1a} 수용체 길항제가 위 저부 윤상근의 전장자극 유도 이완을 저해하고, 5-HT_{1a} 수용체 효현제 전처리가 이를 회복시킬 수 있음을 확인함으로써, 5-HT_{1a} 수용체가 위 저부 accommodation에 중요한 역할을 가지고 있음을 알 수 있었으며,

셋째, *in vivo* 실험을 통해 5-HT_{1a} 수용체 효현제가 같은 용적에서의 위 저부 압력을 감소시키는, 위 저부 이완 효과를 가지고 있으며, 이러한 위저부 이완효과가 5-HT_{1a} 수용체 길항제에 의해 봉쇄됨을 확인할 수 있었다.

결론적으로 5-HT_{1a} 수용체 효현제는 아직까지 효과적인 치료약제가 부족한 accommodation 장애를 가진 기능성 소화불량증을 개선시킬 수 있는 가능성이 있는 약제임을 확인할 수 있었다.

참고문헌

1. Abrahamsson H. Studies on the inhibitory nervous control of gastric motility. Acta Physiol Scand 1973;390:1-38.
2. Abrahamsson H. Non-adrenergic non-cholinergic nervous control of gastrointestinal motility patterns. Arch Int Pharmacodyn 1986;280(Suppl):50-61.
3. Azpiroz F, Malagelada JR. Vagally mediated gastric relaxation induced by intestinal nutrients in the dog. Am J Physiol 1986; 251: G727-35.
4. De Ponti F, Azpiroz F, Malagelada JR. Reflex gastric relaxation in response to distension of the duodenum. Am J Physiol 1987; 252: G595-601.
5. Tack J, Piessevaux H, Coulie B, Caenepeel P, Janssens J. Role of impaired gastric accommodation to a meal in functional dyspepsia. Gastroenterology 1998; 115:1346-52.
6. Kindt S, Tack J. Impaired gastric accommodation and its role in dyspepsia. Gut 2006; 55: 1685-91.
7. Bisschops R, Tack J. Dysaccommodation of the stomach: therapeutic nirvana? Neurogastroenterol Motil 2007; 19: 85-93.
8. Tack J, Janssen P. Emerging drugs for functional dyspepsia. Expert Opin Emerg Drugs. 2011;16:283-92.
9. Azpiroz F, JR Malagelada. Importance of vagal input in maintaining gastric tone in the dog. J Physiol 1987;384:511-524.
10. Bulbring E, Gershon MD. 5-Hydroxytryptamine participation in

the vagal inhibitory innervation of the stomach. J Physiol 1967; 192: 823-46.

11. Meulemans AL, Helsen LF, Schuurkes JAJ. The role of nitric oxide (NO) in 5-HT induced relaxations of the guinea-pig stomach. Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol 1993; 384: 424-30.
12. Desai KM, Sessa WC, Vane JR. Involvement of nitric oxide in the reflex relaxation of the stomach to accommodate food or fluid. Nature 1991; 35: 477-9.
13. Grundy D, Gharib-Naseri M, Hutson D. Role of nitric oxide and vasoactive intestinal polypeptide in vagally mediated relaxation of the gastric corpus in the anaesthetized ferret. J Auton Nerv Syst 1993; 43: 241-6.
14. Tack J, Demedts I, Meulemans A, Schuurkes J, Janssens J. Role of nitric oxide in the gastric accommodation reflex and in meal induced satiety in humans. Gut 2002; 51: 219-24.
15. Kuiken SD, Vergeer M, Heisterkamp SH, Tytgat GN, Boeckxstaens GE. Role of nitric oxide in gastric motor and sensory functions in healthy subjects. Gut 2002; 51: 212-8.
16. Gershon MD. Roles played by 5-hydroxytryptamine in the physiology of the bowel. Aliment Pharmacol Ther. 1999;13 (Suppl 2):15- 30.
17 . Gershon MD , Tack J . The serotonin signaling system: from basic understanding to drug development for functional GI disorders . Gastroenterology 2007 ; 132 : 397 - 414 .
18. Tack J, Vanden Berghe P, Coulie B, Janssens J: Sumatriptan is

an agonist at 5-HT receptors on myenteric neurones in the guinea-pig gastric antrum. Neurogastroenterol Motil 2007,19:39-46.

19. Tack J, Coulie B, Wilmer A, Andrioli A, Janssens J: Influence of sumatriptan on gastric fundus tone and on the perception of gastric distension in man. Gut 2000, 46:468-473.

20. Sarnelli G, Janssens J, Tack J: Effect of intranasal sumatriptan on gastric tone and sensitivity to distension. Dig Dis Sci 2001, 46:1591-1595.

21. Coleman NS, Marciani L, Blackshaw E, Wright J, Parker M, Yano T, Yamazaki S, Chan PQ, Wilde K, Gowland PA et al.: Effect of a novel 5-HT_3 receptor agonist MKC-733 on upper gastrointestinal motility in humans. Aliment Pharmacol Ther 2003, 18:1039-1048.

22. Thumshirn M, Fruehauf H, Stutz B, Tougas G, Salter J, Fried M: Clinical trial: effects of tegaserod on gastric motor and sensory function in patients with functional dyspepsia. Aliment Pharmacol Ther 2007, 26:1399-1407.

23. Keller GA, Di Girolamo G. Prokinetic agents and QT prolongation: a familiar scene with new actors. Curr Drug Saf. 2010;5:73-8.

24. Boeckxstaens GE, Tytgat GN, Wajs E, van Nueten L, de Ridder F, Meulemans A, Tack J: The influence of the novel 5-HT_{1A} agonist R137696 on the proximal stomach function in healthy volunteers. Neurogastroenterol Motil 2006;18:919-26.

25. Tack J, Van Den Elzen B, Tytgat G, Wajs E, Van Nueten L, De

Ridder F, Boeckxstaens G. A placebo-controlled trial of the 5-HT_{1A} agonist R-137696 on symptoms, visceral hypersensitivity and on impaired accommodation in functional dyspepsia. Neurogastroenterol Motil. 2009;21:619-26.

26. Miwa H, Nagahara A, Tominaga K, Yokoyama T, Sawada Y, Inoue K, Ashida K, Fukuchi T, Hojo M, Yamashita H, Tomita T, Hori K, Oshima T. Efficacy of the 5-HT_{1A} agonist tandospirone citrate in improving symptoms of patients with functional dyspepsia: a randomized controlled trial. Am J Gastroenterol. 2009;104:2779-87.
27. Chial HJ, Camilleri M, Burton D, Thomforde G, Olden KW, Stephens D. Selective effects of serotonergic psychoactive agents on gastrointestinal functions in health. Am J Physiol Gastrointest. Liver Physiol. 2003;284:130-137.
28. Van Oudenhove L, Kindt S, Vos R, Coulie B, Tack J. Influence of buspirone on gastric sensorimotor function in man. Aliment Pharmacol Ther 2008;28:1326-33.
29. Tack J, Piessevaux H, Coulie B, Caenepeel D, Janssens J. A placebo-controlled trial of buspirone, a fundus relaxing drug, in functional dyspepsia: effect on symptoms and gastric sensory and motor function. Gastroenterology 1999;116:G1423 (Abstract).
30. Kojima S, Ishizaki R, Shimo Y. Investigation into the 5-hydroxytryptamine-induced relaxation of the circular smooth muscle of guinea-pig stomach fundus. Eur J Pharmacol. 1992;224:45-9.

31. Park HJ, Lee YH, Lee HY, et al. The effect of nitric oxide and vasoactive intestinal peptide on the smooth muscle relaxation of a Guinea pig's gastric fundus. The Korean J of Gastroenterology 1997;29:289-300.
32. Koseki J, Oshima T, Kondo T, Tomita T, Fukui H, Watari J, Hattori T, Kase Y, Miwa H. Role of transient receptor potential ankyrin 1 in gastric accommodation in conscious guinea pigs. J Pharmacol Exp Ther. 2012;341:205-12.

ABSTRACT

The effect of 5-hydroxytryptamine$_{1a}$ (5-HT$_{1a}$) receptor agonists on gastric accommodation of guinea pig

Young Hoon Youn

Department of Medicine
The Graduate School, Yonsei University

(Directed by Professor Hyojin Park)

Gastric accommodation is active relaxation of gastric fundus according to food ingestion, and its impairment is an important pathophysiologic factor associated with functional dyspepsia. However, there are few therapeutic agents which could improve impaired gastric accommodation in clinical practice. Buspirone is 5-HT$_{1a}$ agonist which is commonly used as anxiolytic. There was a previous report that buspirone improved maximal water intake in water load test of healthy volunteer, and some animal experiments indicated that 5-HT$_1$ receptor is involved in gastric accommodation. So, we aimed to investigate the effect of 5-HT$_{1a}$ receptor agonist, buspirone

on gastric accommodation of guinea pig.

Firstly, immunohistochemical stains for 5-HT_{1a} receptor could confirm the expression of 5-HT_{1a} receptor in guinea pig stomach. Secondly, muscle strips of fundic circular proper muscle(10mm×3mm), obtained from 300-350 weighed guinea pigs, were tested for electrical field stimulation(EFS) induced relaxation in tissue chamber filled with Krebs'-Henseleit solution. After High K^+(25mM) induced pre-contraction under non-adrenergic & non-cholinergic condition(by atropine and guanethidine pretreatment), the EFS-induced relaxation of fundic muscle strips were significantly inhibited by WAY-100635(5-HT_{1a} antagonist) by dose-dependent manner, and this inhibition was significantly ameliorated by pretreatment of buspirone. Thirdly, an *in vivo* gastric tone measurement experiment was done. After laparotomy under anesthesia, an indwelling polyethylene balloon was placed in gastric fundus of guinea pig. After recovery for 7 days, gastric tone was measured in conscious state, by distending the bag with air infusion and recording changes in intrabag pressure at various volumes. Pretreatment with buspirone significantly decreased intragastric pressure, compared with vehicle. But WAY-100635 pretreatment could block the buspirone-induced decrease of gastric pressure.

In conclusion, this study could confirm the relaxation effect

of 5-HT_{1a} agonist buspirone on gastric fundus by both *in vitro*, and *in vivo* model. Such 5-HT_{1a} agonist might be a possible therapeutic agent for functional dyspepsia with impaired gastric accommodation.

Key words: functional dyspepsia, gastric fundic accommodation, 5-HT_{1a} receptor, buspirone