

기니 픽 회장 운동 기능에 미치는 Phosphodiesterase 4형과 5형 억제제의 효과

연세대학교 의과대학 내과학교실, 생리학교실*

박효진 · 최성우 · 이영호* · 임정현 · 이상인 · 박인서

The Effect of Phosphodiesterase Type 4 and 5 Inhibitors on Ileal Motor Function of the Guinea Pig

Hyo Jin Park, M.D., Sung Woo Choi, M.D., Yong Ho Lee, Ph.D.,
Jung Hyun Lim, B.S., Sang In Lee, M.D., and In Suh Park, M.D.

Departments of Internal Medicine and Physiology*, Yonsei University College of Medicine, Seoul, Korea

Background/Aims: Intracellular cAMP or cGMP is degraded by cyclic nucleotide phosphodiesterase (PDE). We hypothesized that PDE inhibitors modulate the peristalsis and nerve-induced responses of the smooth muscle of the guinea pig ileum. **Methods:** To examine the effect of rolipram (type 4 inhibitor of PDE) and zaprinast (type 5 inhibitor of PDE), we measured peristaltic amplitude, area under curve (AUC), and frequency of contractions from ileal preparation using the peristaltic bath. The mechanical activity of the circular muscle was measured with a clip attached, via the three sites of serosal surface, to the underlying circular muscle of intact ileum in the peristaltic chamber. In another set of experiment, muscle strips from the ileum were stimulated by an electrical field. The effects of rolipram, and zaprinast, on peristalsis and nerve-induced contraction were explored. **Results:** The amplitude and AUC of peristaltic contractions were significantly decreased in rolipram or zaprinast-treated group and frequency of contractions was significantly delayed in rolipram or zaprinast-treated group. The nerve-induced contraction of smooth muscle was significantly decreased in rolipram-treated group. **Conclusions:** These observations suggest that PDEs may play a role in the modulation of peristaltic behavior of the ileum and PDE inhibitors may be used in the treatment of hyperkinetic bowel disorders. (*Korean J Gastroenterol* 2002;39:343-349)

Key Words: Zaprinast, Rolipram, Phosphodiesterase, Ileal Motor Function

서 론

Phosphodiesterase (PDE)는 adenosine 3',5'-cyclic mono-phosphate (cyclic AMP) 및 guanosine 3',5'-cyclic mono-

phosphate (cyclic GMP)의 대사에 관여하는 효소이다.¹ 현재까지 7개의 PDE 동종효소(isoenzyme)가 알려져 있는데, 이들은 Ca⁺⁺/calmodulin-dependent PDE (PDE 1), cyclic GMP-stimulated cyclic AMP hydrolysis PDE (PDE 2), cyclic GMP-inhibited cyclic AMP hydrolysis PDE (PDE 3), cyclic AMP-specific PDE (PDE 4), cyclic GMP-specific PDE (PDE 5), transducin-regulated PDE (PDE 6), cyclic AMP-specific PDE (PDE 7) 등이며,¹ 현재까지 PDE 1, 3, 4 및 5형에 대한 선택적인 억제제들이 개발되었다.²

세포내 cyclic AMP (cAMP) 또는 cyclic GMP (cGMP)는

접수: 2001년 9월 22일, 승인: 2002년 4월 16일

연락처: 박효진, 135-270, 서울 강남구 도곡동 146-92

연세대학교 의과대학 영동세브란스병원 내과

Tel: (02) 3497-3318, Fax: (02) 3463-3882

E-mail: HJPARK21@yumc.yonsei.ac.kr

※본 연구는 2000년도 연세대학교 의과대학 장기해외교수연구비의 보조로 이루어졌음.

각각 adenylyate cyclase 및 guanylate cyclase의 활성화에 반응하여 생성된다. 세포 내에서 cAMP 또는 cGMP가 증가하게 되면, 하부식도괄약근(lower esophageal sphincter, LES), 회장, 내항문괄약근 등 위장관 여러 부위의 평활근이 이완된다.^{3,6} 세포내 cyclic nucleotide 농도는 이들의 합성과 파괴 간의 평형을 반영하는데, 파괴는 PDE 동종효소들에 의해 조절된다. 이 효소들은 개체와 위장관 부위에 따라 존재 및 활성도가 다른데,¹ 개의 LES에서는 3형 및 5형 억제제가 그 기저압을 농도-의존적으로 이완시키며,⁷ 개 대장에서는 4형 동종효소가 기능적으로 가장 중요하다고 하였고,⁸ 고양이 위저부에서는 3, 4, 및 5형의 PDE 동종효소가 위저부 톤을 조절하는 데에 관여한다고 보고되었다.⁹

4형 및 7형 PDE는 cAMP-specific PDE로서, rolipram은 4형 PDE 선택적인 억제제로 개발되었으며,^{10,11} rolipram을 이용한 실험에서 기니 픽 및 흰쥐 회장 수축을 조절하는 데에 cAMP의 역할과 4형 PDE의 중요성이 입증된 바 있다.⁶

발기부전 치료제인 sildenafil(비아그라[®])는 PDE 5형 억제제로서, 조직내 cGMP의 대사를 억제시킴에 따라, 음경내 혈관벽의 평활근을 이완시켜 혈류량을 늘려서 발기를 지속시키는 약물로 최근 각광을 받고 있다.^{12,13} 그러나, sildenafil을 복용하는 환자가 늘어남에도 불구하고 본 약제의 위장관계 작용 및 그 기전에 관해서는 국내외적으로 아직 연구가 많지 않은 실정이다. 1999년 저자 등¹⁴은 sildenafil과 같은 5형 PDE 억제제인 zaprinast를 이용하여 본 약제가 주머니 쥐(opossum)의 식도체부 압력과 하부식도괄약근압을 저하시킨다는 실험 결과를 보고한 바 있다.

이에 저자 등은 4형과 5형 PDE 억제제가 기니 픽 회장 연동 및 근 수축에 미치는 영향을 알아보고자 본 연구를 시행하였다.

대상 및 방법

1. 대상

약 350-400 그램 정도 되는 수컷 기니 픽(n=25)을 사용하였다.

2. 방법

회장·대장 접합부로부터 구측 10 cm 상방에서 15 cm 가량의 회장을 채취하여 자체 제작한 연동함(peristaltic chamber)에 위치시킨 후 함(chamber) 용액 및 관강 내로 4형 PDE 억제제인 rolipram 혹은 5형 PDE 억제제인 zaprinast를 투여한 후 연동운동을 관찰하며, 본 약제들이 회장 윤상근의 장력에 미치는 영향을 측정하기 위해 채취한 근육 절편을 조직 욕조(tissue bath)에 위치시킨 후 상기 약제를 주

입한 후 전장 자극 후 수축압을 측정하였다.

1) 연동운동 측정

채취한 약 15 cm 길이의 회장을 혼합기체(95% O₂+5% CO₂)가 충분히 공급되고, 온도가 37°C로 유지되는 Krebs'-Henseleit 용액(in mmol L⁻¹:138.5 Na⁺, 4.6 K⁺, 2.5 Ca²⁺, 1.2 Mg²⁺, 125 Cl⁻, 21.9 HCO₃⁻, 1.2 H₂PO₄⁻, 1.2 SO₄⁻, 11.5 glucose)이 채워진 연동함 내에 위치시킨다(Fig. 1). 윤상근의 기계적 연동 수축을 측정하기 위해 클립(Microserrefines No.18055-04; Fine Science Tools Inc., Foster city, CA, USA)을 2.5 cm 간격으로 구축, 중간축, 그리고 항문축 장막 표면에 고정시키고, 클립에 연결한 실을 장관의 종축과 직각 방향으로 하여 장력변환기(tension transducer)에 연결하였고 기초장력을 1 g으로 하였다. 한 시간 동안 평형을 유지시킨 후, 연동 펌프(Masterflex 7523-30 with cartridge 3519-85, Cole-Palmer, Chicao, IL, USA)를 통해 장 내강 내로 Krebs'-Henseleit 용액을 0.4 mL/min의 유속으로 관류시켜 연동 수축과를 유발하였다. 유발된 연동 수축과의 압력, 수축곡선하 면적(area under curve, AUC) 및 다음 수축과까지의 시간(주기)을 측정, 약물 투여군과 대조군을 비교하였다. 약물 투여 방법은 연동함 용액내 및 회장 관강 내로 rolipram 또는 zaprinast (10⁻⁵-10⁻⁸ M)를 투여하였고, 투여 5분 후 상기 값들을 구하였다.

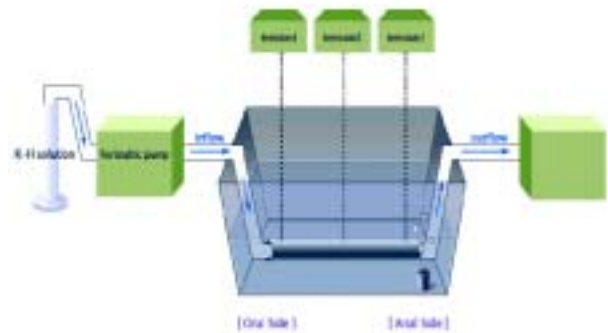


Fig. 1. Peristaltic bath. We used the peristaltic bath to measure peristaltic amplitude, area under curve, and frequency of contractions from 15 cm long ileal preparation which was induced by continuous perfusion via a peristaltic pump. The mechanical activity of the circular muscle was measured with a clip attached, via the three sites (oral, mid, and anal, 2.5 cm apart) of serosal surface, to the underlying circular muscle of intact ileum in the peristaltic chamber.

2) 근육장력검사

채취한 회장 근육절편(10 mm×3 mm)을 5 mL의 조직 욕조에 위치시킨 후, 절편의 한쪽 끝은 압력 계기 변환기(strain gauge transducer)에 연결하여 등척성 장력을 기록하

였다. 근육절편은 혼합기체(95% O₂+5% CO₂)가 충분히 공급되고 온도가 37°C로 유지되는 Krebs'-Henseleit 용액 내에 위치시킨 후, 1 g의 기초장력을 가한 후, 60분간 평형을 유지시켰다. 전기 자극은 자극기(Grass S88 stimulator, Grass Instrument Company, Quincy, MA, USA)를 이용한 전장자극법으로 자극하였다. 사용하는 전기 자극은 신경 말단에서 신경전달물질이 분비될 수 있도록 rectangular wave (4 sec trains of 1 msec, 35 V square wave pulses at 1-20 Hz)로 자극하였다. 약제의 효과를 평가해 보기 위해 10⁻⁵ - 10⁻⁸ M의 rolipram 또는 zaprinast를 투여한 후 5분이 지나 상기의 전장자극을 시행해서 나타나는 수축압을 측정, 약물 투여군과 대조군을 비교해 보았다.

3) 통계학적 분석

각 변수에 대한 결과는 평균±표준오차로 기록하였고, 통계학적인 분석은 Pearson 상관분석과 one-way 및 two-way analysis of variance (ANOVA) with repeated measure test를 적용하였다. 유의성 검정은 p값이 0.05 미만인 경우로 하였다.

결 과

1. 회장 연동운동에 미치는 rolipram 및 zaprinast의 효과

약제 처치 없이 60분간 평형 상태를 유지한 상태에서 연

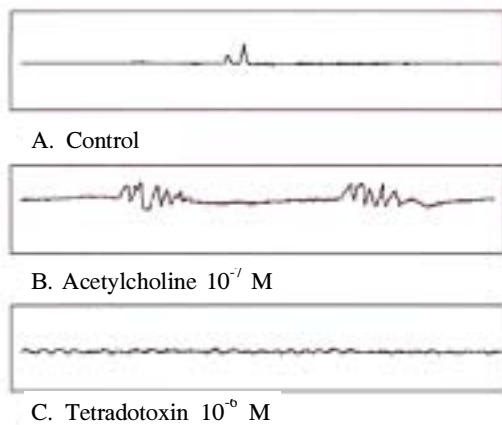


Fig. 2. Peristaltic contraction induced by perfusion with oxygenated Krebs'-Henseleit solution. (A) After equilibration, the lumen was perfused with oxygenated Krebs'-Henseleit solution at 37°C at a rate of 0.4 ml/min via a peristaltic pump which initiated peristaltic waves. (B, C) The numbers of peristaltic contraction was increased after administration of acetylcholine (10⁻⁷ M) and abolished by tetrodotoxin (10⁻⁶ M).

동 펌프를 통해 0.4 mL/min의 유속으로 Krebs'-Henseleit 용액을 관강 내로 관류하면, 연동 수축파가 유발되었다 (Fig. 2A). 유발된 연동 수축파는 흥분성 신경전달물질인 아세틸콜린(10⁻⁷ M) 투여 후 수축파 수 및 곡선하 면적이 증가하였고(Fig. 2B) 연동파가 신경매개성인지를 알아보기 위해 tetrodotoxin (10⁻⁶ M) 투여하였더니 연동 수축파는 소실되었다 (Fig. 2C).

4형 PDE 억제제인 rolipram (10⁻⁸ M - 10⁻⁵ M)을 투여해 본 바(n=5), 수축파 압력은 저하되는 경향을 보였으나 통계학적으로 유의하지 않았으나(Fig. 3A), AUC는 구측 및 항문측에서 10⁻⁷ M 농도부터 유의하게 저하됨을 알 수 있었으며(Fig. 3B) 다음 수축까지의 시간은 10⁻⁵ M 농도에서 유의하게 길어짐을 관찰하였다(Fig. 3C). 5형 PDE 억제제인 zaprinast(n=5, 10⁻⁸ M - 10⁻⁵ M)도 수축파 압력(Fig. 4A) 및 AUC (Fig. 4B)가 유의하게 저하되었고 주기도 길어짐을 관찰하였다(Fig. 4C).

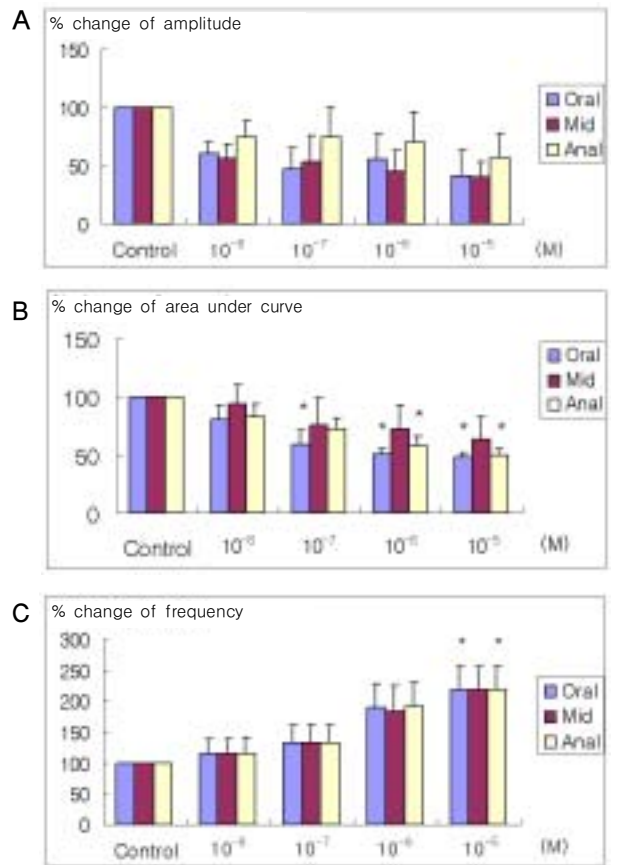


Fig. 3. The effect of rolipram on ileal peristalsis of guinea pig. (B) The area under curve of peristaltic contractions was significantly decreased in rolipram-treated group. (C) The frequency of contractions was significantly delayed in rolipram-treated group. * p < 0.05, compared with control.

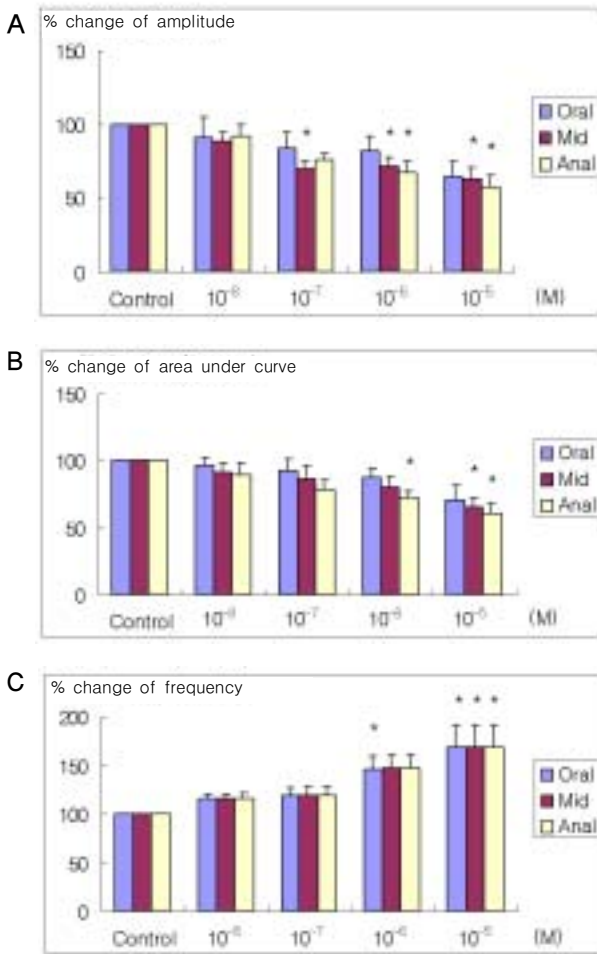


Fig. 4. The effect of zaprinast on ileal peristalsis of guinea pig. (B) The amplitude and area under curve of peristaltic contractions were significantly decreased in rolipram-treated group. (C) The frequency of contractions was significantly delayed in rolipram-treated group. * p<0.05, compared with control.

2. 회장 근육 수축에 미치는 rolipram 및 zaprinast의 효과

채취한 회장 윤상근을 조직 욕조에 위치시킨 후, 등척성 장력을 기록하였다. 60분간 평형후 전장자극을 시행하여 수축과를 유발하였는데, 약제 처치 없이 자극 주기가 증가함에 따라 수축압이 증가됨을 관찰하였다 (r=0.708, p<0.05) (Fig. 5).

4형 PDE 억제제인 rolipram (10⁻⁸ M - 10⁻⁵ M)을 투여한 후, 전장자극을 시행해 본 바(n=6), 유발된 수축압이 전 자극 주기하에서 농도 의존적으로 유의하게 저하되었다 (Fig. 6A). 5형 PDE 억제제인 zaprinast (10⁻⁸ M - 10⁻⁵ M)를 투여 후(n=5), 전장자극 후 유발된 수축과 압력은 대조군과 유의한 차이가 없었다(Fig. 6B).

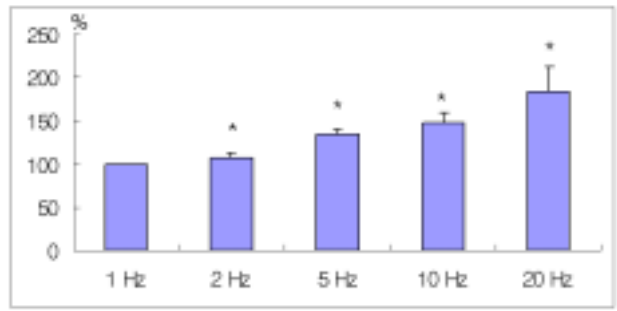


Fig. 5. The effect of electrical stimulation on contraction of guinea pig ileum in tissue bath study. The stimulating electrodes were attached to the output of a Grass S88 stimulator, which delivered 4 sec trains of 1 msec, 35 V square wave pulses at 1-20Hz. The amplitudes of contraction were increased with a stimulation frequency-dependent manner, and its correlation was significant (n=5). * p<0.05, compared with control.

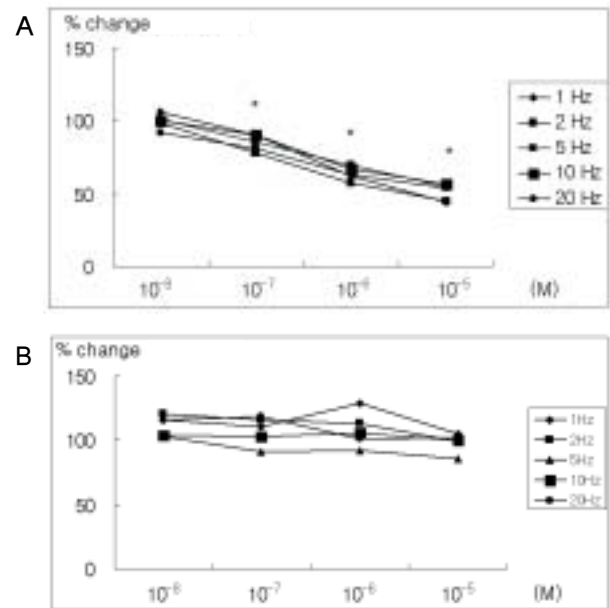


Fig. 6. The effect of rolipram and zaprinast on contraction of guinea pig ileum in tissue bath study. (A) The nerve-induced contraction of ileal smooth muscle was significantly decreased in rolipram-treated group (n=6). (B) It was not changed significantly in zaprinast-treated group (n=5). * p<0.05, compared with control.

고찰

비아드레날린성 비콜린성 신경전달물질인 nitric oxide (NO) 및 vasoactive intestinal polypeptide (VIP)는 각각 guanylate cyclase와 adenylate cyclase를 활성화시켜, 각각 cGMP 및 cAMP의 세포내 축적을 초래하여 위장관근을 포함한 평활근 이완을 유도한다.¹⁵⁻¹⁷ 2차 전달물질로서의 cGMP와 cAMP는 PDE에 의해 파괴되므로, PDE 억제제는 세포내 cGMP 또는 cAMP 양을 증가시킴으로써 근육 이완

을 초래케 한다.^{8,18}

본 연구에서는 PDE 억제제 중에서 4형 PDE 억제제인 rolipram이 조직 육조 실험상 기니 픽 회장 근수축을 억제하였고, 연동함을 이용한 실험상에서 rolipram과 5형 PDE 억제제인 zaprinast가 회장 연동 수축의 억제 및 다음 수축까지의 주기가 길어짐을 처음으로 증명하였다.

PDE 동종효소는 개체 및 부위에 따라 존재 및 활성화 정도가 다른데, 개 대장 근육에서는 적어도 5개의 동종효소(PDE type I - V)가 있음이 관찰되었고,⁸ 이들 효소에 대한 억제제를 이용해서 카바콜로 유도된 근수축 실험상 4형 PDE 억제제인 rolipram이 가장 유의하게 수축을 억제함이 보고되었다. 그 억제 강도는 rolipram, Ro 20-1724 (4형 PDE 억제제), isobutyl methylxanthine(비선택적 PDE 억제제), SB 94120 (3형 PDE 억제제), zaprinast의 순으로 보고 하면서, 선택적인 4형 PDE 억제제가 장관의 과운동성 질환의 치료 약물로 쓰일 수 있음을 제시하였다.

기니 픽 회장 근육절편을 이용한 장력실험에서 rolipram은 methacholine으로 유도된 농도-수축 반응 곡선을 우측으로 전위(rightward displacement)시켰다는 보고가 있으며,⁶ 기니 픽 회장을 재료로 하여 항문측에서 전장자극 후 구측에서 활성화되는 즉, 상행 흥분성 장신경로(ascending excitatory enteric nerve pathway) 실험에서는 구측 수축을 유의하게 억제하였다는 보고가 있다.¹⁹ 본 연구에서도 근육 장력실험상 rolipram (10^{-8} M - 10^{-5} M)을 투여한 후, 전장자극을 시행하여 유발된 수축과압이 유의하게 저하됨을 관찰하여 앞에 기술한 여러 실험 결과들을 뒷받침하였다. 연동함을 이용해서 연동 수축반응을 관찰한 실험에서도 농도의존적으로 수축과 압력 및 곡선하 면적이 유의하게 저하되고 다음 수축이 나타나는 시점까지의 시간이 유의하게 길어짐을 관찰하여, rolipram은 기니 픽 회장 근육의 신경 매개성 수축 억제뿐만 아니라 연동 수축을 억제함을 알 수 있었다.

5형 PDE는 cGMP-specific PDE로서 5형 억제제는 세포 내 cGMP 농도를 증가시켜 위장관근 이완을 유도한다. 사람의 LES 근육절편을 이용한 장력검사에서 5형 PDE 억제제인 zaprinast가 LES를 이완시킴이 보고되었고,²⁰ 고양이 위저부 근육절편을 이용한 장력실험에서는 3,4,5 형 PDE 억제제 모두 농도 의존적으로 근 이완을 시키며 이중 zaprinast는 NO와 함께 투여했을 때 그 이완 정도가 더 심화됨이 보고되었다.⁹ 저자 등¹⁴은 주머니쥐의 식도체부근육과 LES 근절편을 이용한 장력검사상 3형 억제제인 zardaverine과 5형 억제제인 zaprinast가 LES 기저압을 농도 의존적으로 유의하게 저하시켰고 전장자극 후 이완된 LES 압력이 자극 전 기저압으로 회복되는 시간이 더디어짐을 관찰하였다. 또, 식도체부 근육의 전장자극 후 수축압도 유

의하게 저하됨을 관찰함으로써, PDE가 식도의 연동을 조절하며, PDE 억제제를 식도 아칼라지아 또는 미만성 식도경련 등의 식도운동성 질환 치료에 쓸 수 있다는 이론적 배경을 제시한 바 있다.

이어 저자 등²¹은 상기의 실험적 결과를 토대로 식도 관련증상이 없고 식도내압검사상 정상인, 건강 자원자 8명을 대상으로 5형 PDE 억제제인 sildenafil을 투여해 본바, 식도체부 연동 수축압 및 LES 압력이 유의하게 저하되는 것을 관찰할 수 있었다. 식도 아칼라지아 환자에게 sildenafil (50 mg)을 투여, 식도내압 변화를 분석한 연구에서, LES 기저압 및 연하 후 잔여압의 저하와 체부 연동 수축압이 대조군에 비해 유의하게 저하됨이 보고되었는데,²² 그 최대 효과는 투약 15-20분 후에 나타났고, 효과는 1시간 정도 지속되었다고 하였다. 그러나 정상 식도에서, NO의 불활성화 또는 생성을 차단하면 식도체부에 동시 수축을 유발할 수 있으므로, 본 약제를 투여하면 아칼라지아 환자에서 관찰되는 식도체부의 동시 수축과를 정상 수축과로 회복시킬 것을 기대하였으나, 식도체부의 전과 속도 변화를 관찰할 수 없었다고 하였다.

한 연구⁸에서는 개 대장 근육절편 장력검사상 zaprinast가 기대보다 그 수축 억제 강도가 유의하지 않음을 관찰하고, 음이온 교환 크로마토그래피를 이용한 대장 근육내 PDE 활성화도 실험상 calmodulin 존재하에 cAMP 가수분해 활성화도가 증가하고 이것이 zaprinast에 의해 억제되는 것을 관찰한 바, 이는 개의 대장 근육에 대해서는 zaprinast가 5형 PDE 억제 효과보다는 1형 PDE 억제 효과로 그 반응이 나타났다고 하였다. 다른 보고에서 기니 픽 회장 근절편을 이용한 장력실험상 zaprinast는 metacholine에 의한 수축반응에서 농도-의존적으로 억제하였다고 하나,⁶ 본 실험과 달리 고농도(10^{-5} - 10^{-3} M)를 사용한 차이에서 연유된다고 하겠다. 본 연구에서도 5형 PDE 억제제인 zaprinast (10^{-8} - 10^{-5} M)를 투여한 후, 전장자극하여 유발된 수축과 압력은 대조군과 유의한 차이가 없었다. 그러나 연동함을 이용한 연동 수축실험에서는, zaprinast는 수축과 압력이 유의하게 저하되었고 주기도 길어져서, 실험에 사용한 농도에서는 신경 매개성 수축 유발에 대한 억제 효과는 없으나, 연동 억제 효과는 있음을 알 수 있었다.

본 실험에서 사용한 조직 육조를 이용한 근 장력실험 결과상 약물의 억제 정도가 rolipram이 zaprinast보다 더 현저하였는데, 이는 개 대장 및 고양이 위저부에서 측정된 장력 혹은 PDE 활성도를 동종효소별로 비교한 실험에서^{8,9} 4형 PDE 억제제인 rolipram이 5형 PDE 억제제인 zaprinast보다 더 강하다는 다른 보고 결과와 일치하여 PDE 활성화가 기니 픽 회장 근육에서는 4형이 5형보다 더 강함을 시사하였다.

결론적으로 4형 및 5형 PDE 억제제 약물이 기니 픽 회장 근 수축 또는 연동운동에 억제 효과가 있음을 알 수 있었고, 식도 및 기타 위장관에서도 근 이완 효과가 있다고 알려진 바, 최근에 비뇨기과 영역에서 발기부전치료로 각광받는 5형 PDE 억제제인 sildenafil 투여시 식도 및 위장관 근이완을 초래할 수 있음을 실험적으로 증명하였다. 실제로, 기존의 장관 기능이 저하된 환자에서 PDE 억제제를 투여시 기능 저하가 더 심화될 가능성이 있다고 하겠다. 아울러 특정 장기에 보다 선택적인 약제가 개발된다면, 이러한 장관계 이완작용을 이용해서 장관 근육의 과수축이 있는 특정 장운동성 질환의 치료에 응용할 수 있으리라 기대된다.

요 약

목적: 세포내 cAMP 또는 cGMP는 각각 adenylate cyclase 및 guanylate cyclase의 활성화에 반응하여 생성되며 phosphodiesterase (PDE)는 cAMP 및 cGMP의 대사에 관여하는 효소이다. 저자 등은 4형 및 5형 PDE 억제제가 기니 픽 회장 연동 및 근 수축에 미치는 영향을 알아보고자 본 연구를 시행하였다. **대상 및 방법:** 약 400 그램 정도 되는 수컷 기니 픽 회장을 채취하여 4형 PDE 억제제인 rolipram 혹은 5형 PDE 억제제인 zaprinast를 투여한 후 연동운동을 관찰하며, 회장 윤상근의 장력에 미치는 영향을 측정하기 위해 근육절편을 조직 욕조에 위치시킨 후 상기 약제를 주입한 후 전장자극 후 수축압을 측정하였다. **결과:** 연동 실험에서 4형 PDE 억제제인 rolipram (10^{-8} M - 10^{-5} M)은 수축곡선하 면적을 유의하게 억제하였고 다음 수축까지의 시간을 유의하게 연장시켰다. 5형 PDE 억제제인 zaprinast (10^{-8} M - 10^{-5} M)도 마찬가지로 수축과 압력이 유의하게 저하되었고 주기도 길어졌다. 조직 욕조를 이용한 장력실험에서 rolipram은 전장자극 후 유발된 수축과 압을 유의하게 저하시켰으나, zaprinast는 대조군과 유의한 차이가 없었다. **결론:** 결론적으로 4형 및 5형 PDE 억제제 약물이 기니 픽 회장 근 수축 또는 연동운동에 억제 효과가 있음을 알 수 있었고, 향후 과운동성 장질환의 치료에 적용할 수 있는 가능성을 제시하였다고 생각한다.

색인단어: Zaprinast, Rolipram, Phosphodiesterase, 회장 운동 기능

참 고 문 헌

1. Beavo JA. Cyclic nucleotide phosphodiesterases: functional implications of multiple isoforms. *Physiol Rev* 1995;75: 725-748.

2. Kelly RA, Smith TW. Pharmacological treatment of heart failure. In: Hardman JG, Limbird LE, Molinoff PB, Ruddon RW, Goodman Gilman A, eds. *Goodman & Gilman's The pharmacological basis of therapeutics*. New York: McGraw-Hill, 1995:809-838.

3. Barnette MS, Barone FC, Grouse M, Torphy TJ, Ormsbee III HS. Smooth muscle cyclic GMP is elevated by activating enteric neurones in the lower esophageal sphincter (LES) muscle of three species. *Gastroenterology* 1988;95(abstr): 855A.

4. Joslyn AF, Barnette MS, Grouse M, et al. Cyclic nucleotides increase during neuronally induced relaxation of sphincteric gastrointestinal smooth muscle. *J Gastrointest Motil* 1990;2: 65-72.

5. Grouse M, Joslyn AF, Thompson W, Barnette MS. Changes in intracellular cyclic nucleotide content accompanies relaxation of the isolated canine internal anal sphincter. *J Gastrointest Motil* 1991;3:46-52.

6. Tomkinson A and Raeburn D. The effect of isoenzyme-selective PDE inhibitors on methacholine-induced contraction of guinea-pig and rat ileum. *Br J Physiol* 1996;118: 2131-2139.

7. Rattan S and Moumami C. Influence of stimulators and inhibitors of cyclic nucleotides on lower esophageal sphincter. *J Pharmacol Exp Ther* 1989;248:703-709.

8. Barnette MS, Manning CD, Price WJ, Barone FC. Initial biochemical and functional characterization of cyclic nucleotide phosphodiesterase isoenzymes in canine colonic smooth muscle. *J Pharmacol Exp Ther* 1993;264:801-812.

9. Barbier AJ, Lefebvre RA. Relaxant influence of phosphodiesterase inhibitors in the cat gastric fundus. *Eur J Pharmacol* 1995;276:41-47.

10. Stoclet JC, Keravis T, Komar N, Lugnier C. Cyclic nucleotide phosphodiesterases as therapeutic targets in cardiovascular diseases. *Exp Opin Invest Drugs* 1995;4: 1081-1100.

11. Yamashita N, Yamauchi M, Baba J, Sawa A. Phosphodiesterase type 4 that regulates cAMP level in cortical neurons shows high sensitivity to rolipram. *Europ J Pharmacol* 1997;337:95-102.

12. Jeremy JY, Ballard SA, Naylor AM, Miller MAW, Angelini GD. Effects of sildenafil, a type 5 cGMP phosphodiesterase inhibitor, and papaverine on cyclic GMP and cyclic AMP levels in the rabbit corpus cavernosum in vitro. *Br J Urol* 1997;79:958-963.

13. Ballard SA, Gingell CJ, Tang GK, Turner LA, Price ME, Naylor AM. Effect of sildenafil on the relaxation of human

- corpus cavernosum tissue in vitro and on the activities of cyclic nucleotide phosphodiesterase isoenzymes. *J Urol* 1998;159:2164-2171.
14. Park H, Clark E, Conklin JL The effects of phosphodiesterase inhibitors on esophageal motor functions. *Gastroenterology* 1999;116(abstr):1058A.
 15. Thusu KG, Morin FC 3rd, Russell JA, Steinhorn RH. The cGMP phosphodiesterase inhibitor zaprinast enhances the effect of nitric oxide. *Am J Respir Crit Care Med* 1995;152:1605-1610.
 16. Waldman SA, Murad F. Cyclic GMP synthesis and function. *Pharmacol Rev* 1987;39:163-196.
 17. Williams SJ, Parsons ME. Nitric oxide, an enteric non-adrenergic-noncholinergic relaxant transmitter:evidence using phosphodiesterase V and nitric oxide synthase inhibition. *Br J Pharmacol* 1995;116:1789-1796.
 18. Torphy TJ, Fine CF, Burman M, Barnette MS, Ormsbee HS, III. Lower esophageal sphincter relaxation is associated with increased cyclic nucleotide content. *Am J Physiol* 1986;251:G786-793.
 19. Izzo AA, Mascolo N, Capasso F. Effect of selective phosphodiesterase inhibitors on synaptic transmission in the guinea-pig ileum. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 1998;357:677-681.
 20. Barnette MS, Barone FC, Fowler PJ, Grous M, Price WJ, Ormsbee HS. Human lower oesophageal sphincter relaxation is associated with raised cyclic nucleotide content. *Gut* 1991;32:4-9.
 21. 서원태, 박효진, 송기섭, 이상인, 박인서. 건강 자원자에서 식도 운동 기능에 대한 sildenafil의 효과. *대한소화관운동학회지* 2001;7:92.
 22. Bortolotti M, Mari C, Lopilato C, Porrazzo G, Miglioli M. Effects of sildenafil on esophageal motility of patients with idiopathic achalasia. *Gastroenterology* 2000;118:253-257.
-