

흰쥐 肝에서의 解糖作用 Adrenergic receptor에 對한 檢討

The Studies on glycogenolytic adrenergic receptor in rat liver

서울大學校 醫科大學 藥理學教室
車仁濤·朴贊雄

緒 論

1948年 交感神經系를 통한 각종 catecholamine들의 作用이 α - 또는 β -受容體를 매개하여 이루어 질 것이라는 Ahlquist(1948)의 報告 이래 生體內 各 臟기에서의 아드레날린 受容體의 性格을 究明할려는 시도가 많은 學者들에 의하여 있어왔다(Furochcott, 1954; Powell and Slator, 1958). 특히 肝의 炭水化物代謝에 대한 catecholamine들의 效果에 대해 광범위한 研究가 이루어져 왔으며(Haugararo and Hess, 1965; Sutherland and Robison, 1966; Ellis et al., 1967; Himms-Hagen, 1967)개의 代謝作用에 관여하는 아드레날린 受容體는 β -受容體임이 잘 알려져 있으며, 쥐에 있어서도 肝 이외의 다른 臟기의 代謝作用에 관여하는 아드레날린 受容體는 β -受容體로 報告되고 있다(Himms-Hagen, 1967; Hornbrook, 1970).

그러나 흰쥐 肝의 解糖作用에 관여하는 아드레날린 受容體에 대해서는 血糖上昇作用에 대한 epinephrine 및 norepinephrine의 效果가 isoproterenol에 비해 현저한 것으로 보아 α -受容體가 더 우세하리라고 報告하고 있으며(Flemming and Kennedy, 1964) Newton (Newton and Hornbrook, 1972) 등은 소량의 isoproterenol을 정맥내 투여시 adenylyl cyclase 및 glycogen phosphorylase의 活性도가 皮下 또는 腹腔內 투여시보다 현저히 증가된 것으로 보아 β -受容體가 주로 關與하리라는 相反된 報告를 하고 있다.

한편 흰쥐 肝의 解糖作用에 관여하는 아드레날린 受容體는 α - 및 β -受容體가 共存하며 甲狀腺호르몬의 분비 상태에 따라 α - 및 β -受容體가 相互變換할 수 있다는 報告들이 있어(Hagino et al., 1968; Menahan and Wieland, 1969; Nagal and Nakagawa, 1972) 아직까지 學者들간에도 定見을 찾지 못하고 있다.

이에 著者は 흰쥐 肝의 解糖作用에 관여하는 아드레날린 受容體의 性質을 究明하기 위한 實驗의 一環으로 肝灌流法(Liver perfusion method)을 利用하여 epine-

phrine, norepinephrine 및 isoproterenol 各 濃度를 一定時間 灌流시킨 후 灌流液內의 遊離糖의 濃度를 測定하였으며 α - 및 β -受容體 遮斷劑를 前處置하였을 때 上記反應이 어떤 양상으로 變化하는지를 觀察하여 얻어진 結果를 報告하는 것이다.

實驗材料 및 方法

實驗動物은 서울大學校 實驗動物飼育場에서 供給받은 體重 200~300gm의 Sprague-Dawley系 흰쥐를 암수 구별없이 使用하였다. 麻醉는 secobarbital sodium (2mg/kg)을 皮下注射하여 施行하였으며, 흰쥐는 背位로 固定하여 腹部切開한 다음 신속히 血液의 逆流을 防止하기 위하여 肝과 右腎靜脈上部 사이의 下大靜脈을 結紮하고 門靜脈과 下大靜脈에 插管하여 bath와 연결하였다.

37°C로 유지되는 bath內의 Krebs-Ringer bicarbonate 완충용액에는 3%結晶牛血清알부민과 헤파린 處置한 全血을 4:5비율되게 混合하여 전체 灌流液이 40ml이 되도록 하였으며 95% O₂-5% CO₂ 混合가스를 계속 공급하였다.

灌流液은 pulsatile pump에 의하여 門靜脈과 下大靜脈間을 순환속도 7.0ml/min.로 일정하게 순환시켰으며 灌流液內의 遊離糖의 濃度는 灌流液 0.2ml을 採取하여 o-toluidine法에 의하여 測定하였다

實驗結果

A. Catecholamine의 濃度 및 灌流時間에 따른 遊離糖의 變化

$3 \times 10^{-7}M$ 의 epinephrine, norepinephrine 및 isoproterenol을 灌流시켰을 때 灌流時間에 따른 灌流液內의 遊離糖의 增加는 epinephrine의 경우 灌流始作 1分後는 $11.47 \pm 2.11mg\%$ 였으며 5分 및 10分後에는 각각 43.60 ± 4.62 , $47.60 \pm 4.73mg\%$ 로 生理食鹽水를 투여한 對照群 6.32 ± 2.61 , $13.48 \pm 2.86mg\%$ 에 비해 현저

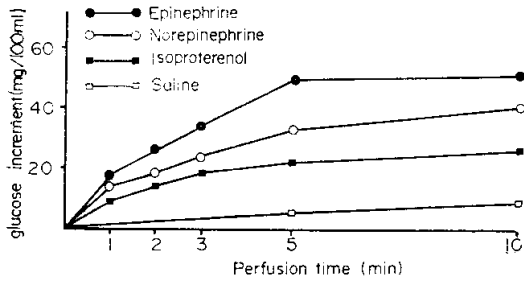


Fig. 1. Time courses of glucose mobilization with $3 \times 10^{-7}M$ of epinephrine, norepinephrine and isoproterenol.

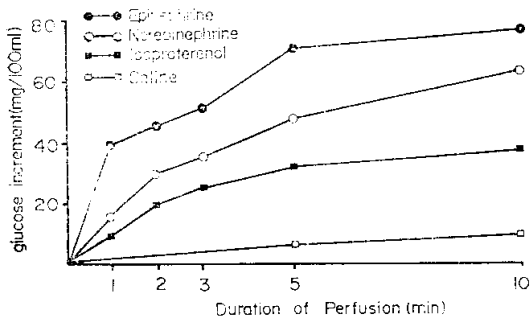


Fig. 2. Time course of glucose mobilization with $6 \times 10^{-7}M$ of epinephrine, norepinephrine and isoproterenol.

한 증가를 나타내었으며 norepinephrine의 경우도 1분 5분 및 10분 후에 각각 8.66 ± 3.18 , 17.80 ± 4.40 , $22.23 \pm 4.30mg\%$ 로 對照群에 비해 有意한 증가를 나타내었으나 isoproterenol의 경우 灌流 5분 및 10분 후에 각각 8.96 ± 2.09 , $13.60 \pm 3.28mg\%$ 로 對照群과 별 차이를 나타내지 않았다(Fig. 1).

$6 \times 10^{-7}M$ 의 epinephrine의 경우 灌流始作 1분, 5분 및 10분 후에 각각 20.15 ± 2.92 , $50.80 \pm 5.97mg\%$ 로 濃度の 증가에 따라 遊離糖이 增加됨을 觀察할 수 있었고, norepinephrine의 경우도 灌流始作 5분 및 10분 후에 각각 33.33 ± 6.74 , $41.90 \pm 7.20mg\%$ 로 epinephrine과 비슷한 경향을 나타내었다. $6 \times 10^{-7}M$ 의 isoproterenol의 경우 $3 \times 10^{-7}M$ 의 경우와 달리 灌流始作 1분, 3분, 5분 및 10분 후에 각각 9.76 ± 1.41 , 18.53 ± 3.12 , 22.23 ± 3.68 및 $27.26 \pm 2.18mg\%$ 로 對照群에 비해 有意한 증가를 나타내었으나 같은 濃度の epinephrine 및 norepinephrine의 效果에는 미치지 못하였다(Fig. 2).

$12 \times 10^{-7}M$ 의 epinephrine의 경우 灌流始作 1분, 3분, 5분 후 각각 39.26 ± 8.24 , 51.76 ± 8.74 , $74.66 \pm 10.12mg\%$ 로서 $6 \times 10^{-7}M$ 에 비해 더욱 현저한 遊離糖

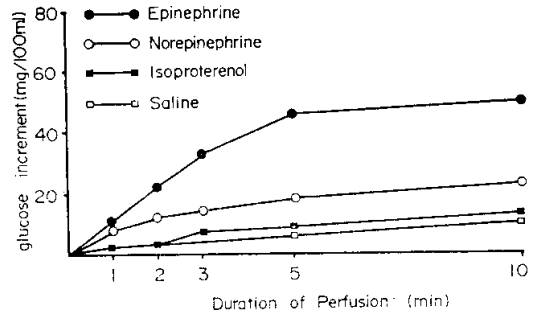


Fig. 3. Time course of glucose mobilization with $12 \times 10^{-7}M$ of epinephrine, norepinephrine and isoproterenol.

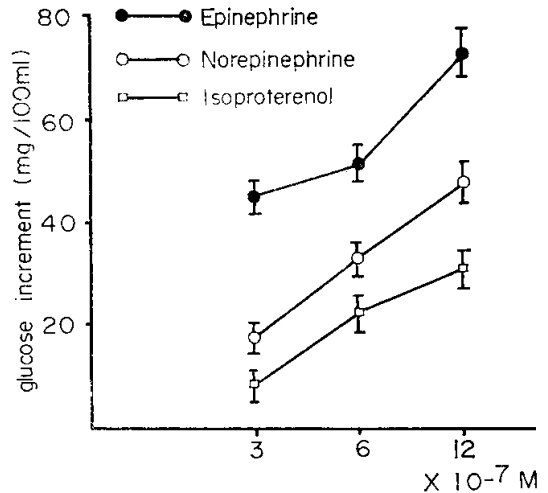


Fig. 4. Dose response curves for epinephrine, norepinephrine and isoproterenol on glucose mobilization in fed rat liver. Each point represents the mean \pm SE from 4 experimental animals.

의 증가를 나타내었으며 norepinephrine의 경우도 1분 3분, 5분 후 각각 14.16 ± 4.93 , 34.63 ± 4.91 , $47.33 \pm 5.30mg\%$ 로서 현저한 遊離糖의 增加를 나타내었다. Isoproterenol의 경우도 1분, 3분, 5분 후 각각 8.53 ± 1.84 , 25.66 ± 4.39 , $31.73 \pm 5.09mg\%$ 로서 역시 對照群에 비해 有意한 증가를 나타내었다(Fig. 3).

Fig. 1, 2, 3의 結果를 綜合하여 灌流時間 5分에서 나타난 用量反應曲線은 Fig. 4와 같으며 epinephrine에 의하여 가장 현저한 解糖作用이 일어남을 알 수 있고 epinephrine에 비해 norepinephrine과 isoproterenol의 用量-反應曲線은 右側轉移가 나타남을 觀察할 수 있었다.

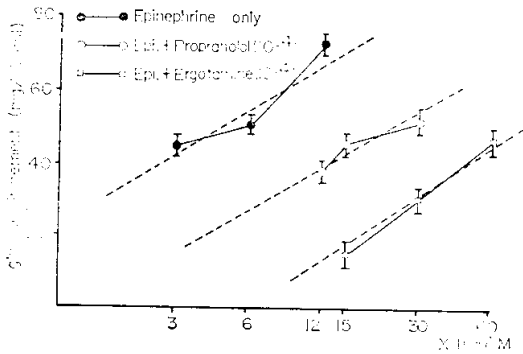


Fig. 5. Antagonism of ergotamine and propranolol on epinephrine induced glucose mobilization from fed rat liver. Each point represents the mean \pm S.E. from 4 experimental animals.

B. Ergotamine 및 propranolol 前處置가 epinephrine의 解糖作用에 미치는 影響

α -受容體 遮斷劑인 ergotamine(10^{-4} M)을 epinephrine투여 10分前에 前處置한 후 epinephrine의 濃度를 1.5×10^{-6} M로 增加시켰을 때 灌流始作 1分, 5分, 10分後에 灌流液內 遊離糖의 增加는 各各 8.83 \pm 1.89, 14.73 \pm 1.79, 29.90 \pm 2.17mg%였다. epinephrine의 濃度를 3.0×10^{-6} M로 增加시켰을 때 灌流始作 1分, 3分, 5分後 遊離糖의 濃度는 17.73 \pm 2.15, 29.73 \pm 3.52, 및 33.70 \pm 4.05mg%로 增加되었으며, epinephrine의 濃度가 6×10^{-6} M로 增加되었을 경우 5分後 遊離糖의 濃度는 47.85 \pm 5.35mg%로 현저히 增加되었다. β -受容體 遮斷劑인 propranolol(10^{-4} M)을 epinephrine 투여 10分前에 前處置한 後 1.2×10^{-6} M의 epinephrine을 투여하였을 때 灌流液內의 遊離糖의 濃度는 1分, 3分, 5分後 各各 18.05 \pm 3.74, 25.50 \pm 2.82 및 37.70 \pm 2.13mg%였다. Epinephrine의 濃度가 1.5×10^{-6} M로 增加되었을 때 1分, 3分 및 5分後에 各各 8.15 \pm 2.89, 25.35 \pm 3.85, 42.55 \pm 4.01mg%로 增加되었다. Epinephrine의 濃度가 3×10^{-6} M로 增加되었을 경우 遊離糖의 濃度는 1分, 3分 및 5分後에 各各 18.15 \pm 2.98, 43.95 \pm 4.13, 51.80 \pm 4.97mg%로 增加되었다.

以上の 結果를 灌流時間 5分에 있어서 用量-反應曲線을 그려보면 Fig. 5와 같으며 α -受容體 遮斷劑인 ergotamine前處置群이 β -受容體 遮斷劑인 propranolol前處置群에 비해 더욱 현저한 用量-反應曲線의 右側轉移를 볼 수 있었다.

考 察

Ahlquist(1948)에 의하여 catecholamine들의 작용양

상에 있어 α - 및 β -受容體의 概念이 도입된 以來 交感神經系에 대한 神經藥理學의 研究가 대단히 활발하게 進行되고 있다. α - 및 β -受容體를 비교적 選擇의으로 抑制하는 藥物들의 開發에 힘입어(Moran and Perk, 1959) β -受容體가 β_1 - 및 β_2 -受容體로 細分됨이 報告되고 있으며, 보다 最近에는 α -受容體도 α_1 - 및 α_2 -受容體로 細分됨이 報告되고 있다(Lands et al., 1967). 앞서에서 言及한 바와같이 物質代謝, 特히 肝의 炭水化合物代謝에 關係하는 아드레날린 受容體에 대해서는 學者들 간에도 見解가 구구하여 定見을 찾지 못하고 있는 形편이다. 本 實驗結果에서 3×10^{-7} M의 epinephrine, norepinephrine 및 isoproterenol을 灌流시킨 후 灌流液內 遊離糖의 增加를 보면 灌流時間에 따라 epinephrine, norepinephrine의 경우 현저한 增加를 나타내었으나 isoproterenol은 對照群에 비해 有意한 增加를 나타내지 못하였다. 上記 catecholamine들의 投與濃度가 6×10^{-7} M로 增加되었을 때 灌流時間에 따른 遊離糖의 증가는 epinephrine과 norepinephrine의 경우 더욱 현저한 增加를 나타내었으며 isoproterenol의 경우도 epinephrine, norepinephrine의 效果에는 미치지 못하나 對照群에 비해 有意한 增加를 나타내었다. 投與濃度가 12×10^{-7} M로 增加되었을 경우도 6×10^{-7} M의 경우와 마찬가지로 경향을 보였으며 遊離糖의 增加幅도 더욱 현저하였다. 上記 結果를 要約한 用量-反應曲線에서 볼 때 α - 및 β -受容體에 同時에 作用하는 것으로 알려진 epinephrine의 效果가 가장 현저하였으며 α -受容體에 주로 作用하는 것으로 알려진 norepinephrine이 β -受容體에 주로 作用하는 Isoproterenol 보다 더 현저한 解糖作用을 보였고 典型的인 用量-反應曲線을 나타낼을 볼 수 있었다. Epinephrine과 norepinephrine의 解糖作用에는 미치지 못하나 isoproterenol에 의한 解糖作用도 어느정도 認定할 수 있었다. Epinephrine의 解糖作用에 대한 遮斷劑들의 작용양상을 究明하기 위하여 α -受容體 遮斷劑인 ergotamine(10^{-4} M)과 β -受容體 遮斷劑인 propranolol(10^{-4} M)을 前處置하였을 때 用量-反應曲線의 轉移有無를 살펴본 結果 propranolol에 비해 ergotamine前處置之 의하여 더욱 현저한 右側轉移를 觀察할 수 있었으며 轉移의 양상은 거의 直線的인 경향을 보였다. 大略的인 dose ratio를 求해보면 ergotamine이 1.5×10^{-6} M인데 비해 propranolol이 6.0×10^{-6} M로 拮抗效果에 있어 ergotamine이 훨씬 강력함을 알 수 있었다.

本 實驗結果와 關聯된 報告들을 考察하면 Haylett와 Jenkinson(1972)의 guinea pig 肝切片을 利用한 實驗, 그리고 Sherline 등의 흰쥐 肝灌流 實驗結果 肝의 解糖

효과는 α - 및 β -受容體가 다같이 關與할 것이라고 報告하였다. Catecholamine의 炭水化物代謝는 細胞膜의 外表面에 存在하는 것으로 알려진 β -受容體를 通해 細胞附着酵素인 adenylyl cyclase를 活性化시켜 細胞內 cyclic AMP의 濃度を 增加시키고 增加된 cyclic AMP가 glycogen phosphorylase를 活性化시켜 glycogen으로 부터 glucose-1-phosphate를 遊離시킴으로써 解糖作用을 일으키는 것으로 일반적으로 알려져 있으나 (Goodman and Gilman, 1975) Sherline(1972) 등과 Exton과 Harper는(1975) 흰쥐 肝에서는 α -受容體刺激으로 cyclic AMP와 關係없이 glycogen phosphorylase의 活性를 增加시켜 肝으로 부터 glucose遊離를 增加시킨다고 報告한바 있다.

以上の 結果를 綜合 要約하면 흰쥐 肝의 解糖作用에 關여하는 아드레날린受容體는 α - 및 β -受容體가 共存하고 있는 것 같으며 α -受容體가 더욱 顯저한 것 같다

結 論

흰쥐 肝에서 解糖作用에 關與하는 아드레날린受容體의 性質을 究明하기 위하여 肝灌流法을 利用하여 epinephrine, norepinephrine 및 isoproterenol의 解糖效果와 epinephrine의 解糖作用에 대한 α -受容體 遮斷劑인 ergotamine과 β -受容體 遮斷劑인 propranolol을 前處置하였을 때의 變化를 觀察하여 다음과 같은 結果를 얻었다.

1. Epinephrine과 norepinephrine은 顯저하게 灌流液內 遊離糖의 增加를 일으켰으며 典型的인 用量—反應曲線을 나타내었으나 isoproterenol의 경우 高濃度에서만 遊離糖의 增加를 일으켰으며 epinephrine이나 norepinephrine처럼 顯저하지는 않았다.

2. Epinephrine의 解糖作用은 β -受容體 遮斷劑인 propranolol에 의해서 보다 α -受容體 遮斷劑인 ergotamine에 의해서 더욱 顯저한 用量—反應曲線의 右側轉移를 보였다.

以上の 結果를 要約하면 흰쥐 肝의 解糖作用에 關여하는 아드레날린 受容體는 α - 및 β -受容體가 同時에 關여하는 것 같으나 α -受容體가 더 優세한 것으로 思料된다.

—ABSTRACT—

The studies on glycogenolytic adrenergic receptor in rat liver

I.J. CHA and C.W. Park

Department of Pharmacology, College of Medicine, Seoul National University

To evaluate the adrenergic receptors which mediate glycogenolysis of rat liver, glycogenolytic response to adrenergic agonists and antagonistic effects of ergotamine and propranolol against glycogenolytic response of epinephrine were investigated using liver perfusion method.

The results are summarized as follow:

1. Marked and dose-dependent increase of glucose in the perfusate were produced by epinephrine and norepinephrine but glycogenolytic response to isoproterenol was not marked as to epinephrine and norepinephrine.

2. Glycogenolytic response to epinephrine was more inhibited by ergotamine than by propranolol.

These results indicate that glycogenolytic response of rat liver to catecholamine are mediated by both of α - and β -receptors but the α receptor seems to be predominant.

REFERENCES

- Ahlquist, R.P.: *Study of the adrenergic receptors. Am. J. Physiol.*, 153:586, 1948.
- Ellis, S.B.L., Kennedy, A.J., Eusebi and Vingent, N.H.: *Autonomic control of metabolism. Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 139:826, 1967.
- Exton, J.H. and Harper, S.C.: *Role of cyclic AMP in the actions of catecholamines on hepatic carbohydrate metabolism. Advan. Cyclic Nucleotide Res.*, 5:519, 1975.
- Flemming, W.W. and Kenny, A.D.: *The effect of fasting on the hyperglycemic response to catecholamines in rats. Brit. J. Pharmacol.*, 22:267-274, 1964.
- Furochgot, R.F.: *Dibenamine blockade in strips of rabbit aorta and its use in differentiating receptors. J. Pharmacol. Exper. Ther.*, 111:265, 1954.

- Goodmans, L.S. and Gilman, A.: *The pharmacological Basis of Therapeutics, 5th ed.*, p.429, MacMillan, 1975.
- Hagino, Y., Lan, S.J., Ng, C.Y. and Henderson, L. M.: *Adrenergic receptors in rat liver. J. Biol. Chem.*, 243:4980, 1968.
- Haugararo, N. and Hess, M.E.: *Actions of autonomic drugs on phosphorylase activity and function. Pharmacol. Rev.*, 17:27, 1965.
- Haylett, D.G. and Jekinson, D.H.: *The receptors concerned in the actions of catecholamines on glucose release, membrane potential and ion movements in guinea-pig liver. J. Physiol.*, 225:751, 1972.
- Himms-Hagen, J.: *Sympathetic regulation of metabolism. Pharmacol. Rev.*, 19:368-461, 1967.
- Hornbrook, K.R.: *Adrenergic receptors for metabolic response in the liver. Fed. Proc.*, 29:1381-1385, 1970.
- Lands, A.M., Arnold, A., McAuliff, J.P., Ludeuna F.P. and Brown, T.G. Jr.: *Differentiation of receptor systems activated by sympathomimetic amines. Nature*, 214:597, 1967.
- Menahan, L.A. and Wieland, O.: *Liver 3',5'-nucleotide phosphodiesterase and its activity in rat livers perfused with insulin. Europ. J. Biochem.*, 8:435-443, 1969.
- Moran, N.C. and Perkins, M.E.: *Adrenergic blockade of the mammalian heart by a dichloro analogue of isoproterenol. J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 124:223-237, 1958.
- Nagal, K. and Nakagawa, H.: *Cold adaptation II. Effect of thyroxine on phosphoenolpyruvate carboxykinase in rat liver in normal and cold environment. J. Biochem.*, 71:125, 1972.
- Newton, N.E. and Hornbrook, K.R.: *Effects of adrenergic agents on carbohydrate metabolism of rat liver: Activities of adenylyl cyclase and glycogen phosphorylase. J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 181:479-488, 1972.
- Powell, C.E. and Slater, I.H.: *Blockade of inhibitory adrenergic receptors by a dichloro analogue of isoproterenol. J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 122:480-488, 1958.
- Sherline, P.A.L. and Glinsmann, W.H.: *Cyclic AMP and adrenergic receptor control of rat liver glycogen metabolism. Endocrinology*, 91:680, 1972.
- Sutherland, E.W. and Robison, G.A.: *Metabolic effects of catecholamines. The role of cyclic 3'5'-AMP in responses to catecholamines and other hormones. Pharmacol. Rev.*, 18:145, 1966.
- Wikberg, J.E.S.: *Pharmacological classification of adrenergic receptors in the guinea pig. Nature*, 273:164, 1978.