

복합성요실금 환자에서 과민성 방광 증상의 동반에 따른 방광점막에서의 칼슘 민감성 포타슘 통로와 코넥신의 발현 양상

Altered Expressions of Calcium-Activated Potassium Channel and Connexin in Bladder Mucosae of Stress Urinary Incontinence Patients with Overactive Bladder Symptoms

Duk Yoon Kim, Jung Wook Kim¹, Eun Kyoung Yang¹

From the Department of Urology, Catholic University of Daegu School of Medicine,
¹Department of Physiology, Kyungpook National University School of Medicine,
Daegu, Korea

Purpose: The aim of this study was to examine how the mRNA and protein levels of calcium activated K⁺ channel (K_{Ca}) and connexin (Cx) change in association with overactive bladder in the bladder mucosae of stress urinary incontinence (SUI) patients.

Materials and Methods: Twenty SUI patients were included in our study. Bladder mucosae were obtained, with using cold cup biopsy forceps, from the patients suffering with genuine stress urinary incontinence (group 1, n=7), from the patients suffering with SUI along with urgency and frequency (group 2, n=6), and from the patients suffering with mixed incontinence (group 3, n=7).

Results: The mRNA transcripts of type 2 (SK2) and type 3 (SK3) small conductance K_{Ca}, Cx26, and Cx43 were highly expressed in the bladder mucosa. The message of large conductance K_{Ca} (BK) was significantly decreased in group 3 compared with that in the controls. The SK2 and Cx26 messages in group 3 were also lower than those in groups 1 and 2. In the presence of urge incontinence, the BK and SK2 protein levels were decreased and the Cx26 protein expression was significantly increased in the bladder mucosa of the SUI patients. In contrast, there were no significant differences in the mRNA and protein levels of K_{Ca}s and Cxs between groups 1 and group 2.

Conclusions: Downregulation of both BK and SK2 and upregulation of Cx26 in the bladder mucosa of MI patients may contribute to the alterations of urothelial instability, and this correlate with the symptom severity of bladder instability in SUI patients. (Korean J Urol 2006;47:722-728)

Key Words: Overactive bladder, Urinary stress incontinence, Urothelium, Calcium-activated potassium channel, Connexins

대한비뇨기과학회지
제 47 권 제 7 호 2006

대구가톨릭대학교 의과대학
비뇨기과학교실, ¹경북대학교
의과대학 생리학교실

김덕윤 · 김정욱¹ · 양은경¹

접수일자 : 2005년 12월 7일
채택일자 : 2006년 6월 15일

교신저자: 김덕윤
대구가톨릭대학교 의과대학
비뇨기과학교실
대구광역시 남구 대명 4동
3056-6
☎ 705-034
TEL: 053-650-4663
FAX: 053-623-4660
E-mail: jeongkl@kumc.or.kr

본 논문은 대구가톨릭대학교 의과대학 의과
학 연구소 연구비 (2005) 지원으로 이루어
진 것임.

서 론

평균수명의 연장으로 급속한 노령화가 진행되고 있는 국
내에서는 생명을 위협하는 질병뿐만 아니라 요실금과 같이
삶의 질과 밀접하게 연관되어 있는 질환의 중요성이 크게
부각되고 있다. 요의 저장과 배출에 관여하는 방광과 요도

괄약근의 기능에 이상이 있는 경우 주로 발생하는 요실금
은 일반적으로 진성요실금, 복합성요실금, 절박성요실금,
그리고 범람요실금으로 구분되며, 여성에서는 복합성요실
금과 복합성요실금에 절박성요실금이 동반된 복합성요실
금이 많다.

복합성요실금에 동반되는 과민성방광 증상 즉, 빈뇨, 요
절박 및 절박성요실금의 치료로 배뇨근의 수축력을 억제하

기 위해 항콜린제가 주로 사용되고 있으나,^{1,2} 항콜린제의 작용이 방광 선택적이지 않으므로 흐린 시력, 어지러움, 구강건조, 변비 등의 부작용을 동반하여 사용에 제한이 있다.^{2,3} 항콜린제에 반응하지 않는 경우 보툴리눔독소와 vanilloid 유도제, 그리고 절박성요실금 치료에 electrical neuromodulation이 사용되고 있으며,^{1,4} β -아드레날린 작용제, 칼슘통로차단제, phosphodiesterase 억제제, 그리고 포타슘 (K^+) 통로개방제가 임상 전단계로 시도되고 있다.^{1,4} 또한, 방광점막을 구성하는 요로상피와 요로상피 밑 조직은 요로와 그 내용물 간의 단순한 장벽으로만 작용한다고 이해하고 있었지만, 최근 여러 연구들에서 요로상피와^{2,4,6} 요로상피 밑 조직이² 방광의 기능 조절과 다양한 방광 질환들의 발병에 중요한 역할을 할 가능성이 제시되어 새로운 치료제 개발의 표적으로 주목받고 있다.

복압성요실금 수술 후에도 과민성방광 증상이 남아 있게 되면 환자가 불편한 것은 물론 수술 성공률을 떨어뜨리는 중요한 요인이 된다. 복압성요실금에 동반된 과민성방광의 병인은 확실하지 않으나, 과민성방광 증상을 지닌 사람의 방광 평활근육의 긴장도 변화와 이에 따른 요실금의 기전을 연구하는 데 흔히 사용되는 방광하부 요로폐색 동물 모델이나^{7,8} K^+ 통로나 틱새이음 (gap junction)을 표적으로 한 transgenic mice를 사용한 연구들에서 배뇨근에 분포하는 K^+ 통로나 틱새이음의 유전자 및 단백질 발현과 기능 변화가 복압성요실금에 동반된 증상의 병인으로 매우 중요한 역할을 할 것으로 보고되고 있다.⁹⁻¹³ K^+ 통로를 표적으로 하는 치료는 신체 전반에 걸친 광범위 작용에도 불구하고 새로운 약 전달계에 대한 활발한 연구로 특정 표적 장기에 대한 선택적 치료가 가능할 것으로 기대되면서 전립선 질환, 발기부전, 과민성방광의 새로운 치료로 대두되고 있다.^{11,13}

따라서 본 연구에서는 복압성요실금 환자의 방광점막에서의 과민성방광 증상의 정도에 따른 칼슘 민감성 K^+ 통로 (K_C) 아형들과 틱새이음을 이루는 코넥신 (connexin, Cx)의 mRNA 발현과 단백질 발현을 비교해 보았다.

재료 및 방법

1. 요실금 환자의 임상 검사 및 조직분리

수술을 위해 입원한 복압성요실금 환자의 배뇨일지, 증상을 검사하여 과민성방광 증상의 동반정도에 따라 환자를 복압성요실금만 가진 군 (1군, 7명, 평균 51세), 빈뇨와 요절박을 동반한 복압성요실금군 (2군, 6명, 평균 44세), 그리고 빈뇨나 요절박과 절박성요실금을 동반한 복합성요실금군 (3군, 7명, 평균 49세)으로 구분하여, 수술 전 조직 검사를 사용하여 양측 요관구 뒤쪽으로 2cm 되는 곳과 이 두 곳을

연결하여 중간지점에서 한 곳 등 세 곳에서 방광점막조직을 적출하였다. 복압성요실금의 정도는 1군이 grade II 2명, grade III 5명이었고, 2군은 grade I 1명, grade II 3명, grade III 2명이었다. 그리고 3군은 grade II 3명, grade III 4명이었다. 대조군으로는 신우요관이행부협착환자 (n=3)와 요도카륜환자 (n=2)의 방광점막을 사용하였다. 연구를 위해서 수술 동의서를 받을 때 방광조직의 일부를 떼 수 있다는 설명과 함께 동의서를 받았다.

2. RNA 분리 및 역전사 중합효소연쇄반응 (reverse transcriptase-polymerase chain reaction)

적출한 방광점막조직을 액체 질소에 담가 급속 냉각한 후 -70°C 에 보관하였다. Trizol reagent (Invitrogen, Carlsbad, USA)를 사용하여 방광조직으로부터 총 RNA를 분리하고, UV/visible spectrophotometer (Pharmacia Biotech, Milwaukee, USA)로 260nm 및 280nm에서의 흡광도를 측정하여 RNA의 순도와 농도를 계산하였다. 코넥신과 K_C 아형들의 mRNA 발현을 측정하고자 DNA thermal cycler (MJ research, Watertown, USA)를 사용하여 다음의 조건에서 역전사 중합효소연쇄반응을 시행하였다. 총 RNA 20 μg 을 oligo (dT) primer와 M-MLV reverse transcriptase (Promega, Madison, USA)로

Table 1. Primer sequences for the polymerase chain reaction (PCR)

| Gene | Primer sequence (5'→3') | Product size (bp) |
|---------|--|-------------------|
| BK | 5'-GCGGTTAGTGGAAGAAAGCA-3' 5'-TGTGGATTGAGGACGGAAC-3' | 215bp |
| IK | 5'-CCATCGTGTGTCTGTGTGTG-3' 5'-CTGGCTCTGGGACTTTTGCT-3' | 221bp |
| SK1 | 5'-CTCGTGGTGGCTGTGGTG-3' 5'-CCTGATGGATGGCTTGA-3' | 223bp |
| SK2 | 5'-GCACAACCTCCAACAAC-3' 5'-ATGACCACGATGCGAAC-3' | 231bp |
| SK3 | 5'-CTAATGCCACCCACAACCA-3' 5'-GCTCGGTCTCTATCACCATAACA-3' | 201bp |
| Cx26 | 5'-CTGCAGCTGATCTTCGTGTC-3' 5'-AAGCAGTCCACAGTGTTG-3' | 308bp |
| Cx32 | 5'-CTGCTCTACCCTGGCTATGC-3' 5'-GAGCAGCGGTCGCTCTT-3' | 380bp |
| Cx43 | 5'-CTCAGCAACCTGGTTGTGAA-3' 5'-TCGCCAGTAACCAGCTTGTA-3' | 709bp |
| Cx45 | 5'-GAGGAGGACAACGAAGAGGA-3' 5'-CACATAAAACGGGTGGACTTG-3' | 234bp |
| 18SrRNA | 5'-GTGGAGCGATTTGTCTGGTT-3' 5'-ACGCTGAGCCAGTCAGTGTA-3' | 201bp |

역전사시켜 얻은 cDNA 주형을 Table 1의 primer와 함께 변성 (94°C, 2분), 붙임 (primer에 따라 56-60°C, 1분), 그리고 연장 (72°C, 2분)하는 과정을 primer에 따라 25-35회 수행하고 최종적으로 72°C에서 5분간 두어 증폭하였다. 증폭된 산물을 1% agarose 겔 상에서 전기영동한 후 ethidium bromide로 염색시켜 polaroid film으로 사진을 찍어 gel documentation system (Biorad, Hercules, USA)으로 영상 분석하였다. Primer 제작에는 primer3 software¹⁴를 사용하였다.

3. 면역탁본법 (immunoblot analysis)

적절한 방광점막조직을 150mM NaCl, 25mM Tris-HCl (pH 7.4), 1% Triton X-100, 1% sodium deoxycholate, 0.1% SDS, 1% Nonidet P-40, protease inhibitor (Roche, Basel, Switzerland)를 포함한 완충액에 담가 homogenizer로 마쇄한 다음, 12,000rpm, 4°C에서 20분간 원심분리 한 후 상층액을 취

하여 Bradford 방법으로 단백 농도를 측정하였다. 추출한 총 단백 40µg을 10% polyacrylamide gel에서 전기영동한 후 polyvinylidene fluoride membrane에 옮겼다. Membrane은 3% skim milk를 함유한 tris buffered saline (50mM Tris (pH 7.4), 10mM NaCl)으로 1시간 동안 실온 (15-30°C)에서 반응시킨 후, 1:500 또는 1:1,000으로 희석한 large conductance K_{Ca} (BK)와 type 2 (SK2) 및 type 3 small conductance K_{Ca} (SK3) (Alomone Labs, Jerusalem, Israel) 일차항체, 그리고 Cx26과 Cx43 (Zymed Laboratories, San Francisco, USA), Cx45 (Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, USA)에 대한 일차항체와 4°C에서 14-16시간 동안 반응시켰다. 이후 membrane을 과산화 효소와 접합된 단클론 이차 항체와 반응시킨 후 ECL system (Amersham Biosciences, Buckinghamshire, England)으로 단백질을 확인하였다.

4. 통계 분석

실험결과는 평균과 표준오차 (Mean±SEM)로 나타났다. 군들 간의 비교에는 분산분석법 (ANOVA)을 사용하였고, Duncan test로 검정하였으며, p값이 0.05 미만일 경우 유의한 차이가 있는 것으로 간주하였다.

결 과

1. 방광점막의 칼슘 민감성 포타슘 통로 mRNA 및 단백 발현 변화

역전사 중합효소연쇄반응을 시행한 결과 방광점막에는 BK, SK2, SK3 mRNA가 주로 발현되었다 (Fig. 1). 복잡성요

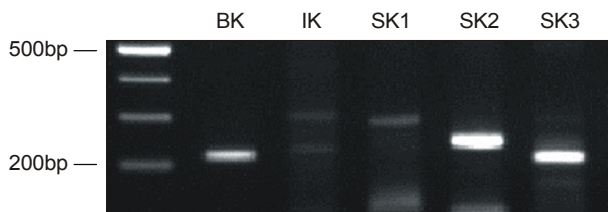


Fig. 1. Ethidium bromide-stained gel of the polymerase chain reaction (PCR) products for the calcium activated potassium channel (K_{Ca}) subfamilies in human bladder mucosae. BK, IK, and SK denote the large-, intermediate- and small-conductance K_{Ca}s, respectively.

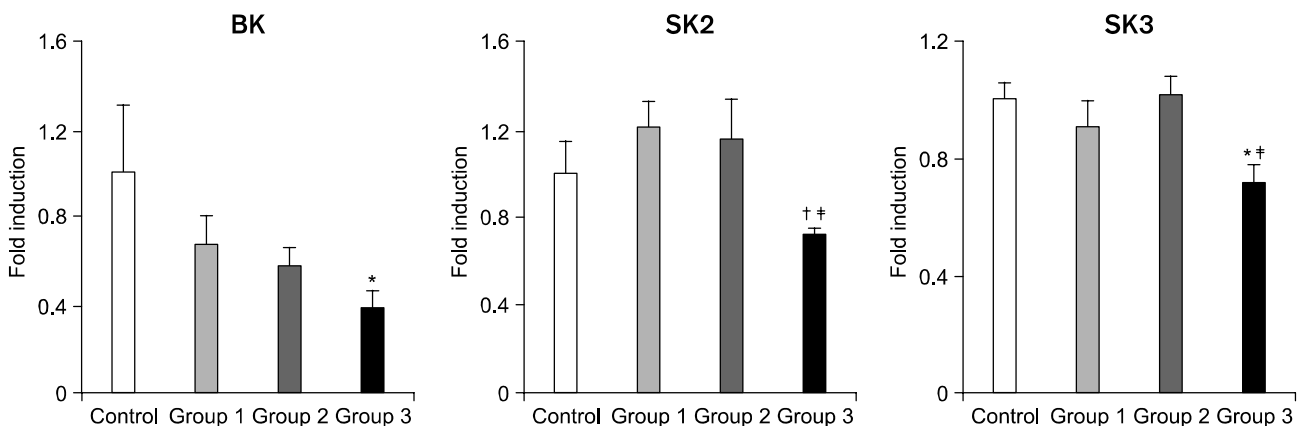


Fig. 2. Densitometric analyses of the polymerase chain reaction (PCR) products for BK, SK2 and SK3, corrected for the 18SrRNA value, in each sample. The results are expressed as the fold changes in mRNA (means±SE). BK and SK represent the large- and small-conductance calcium activated potassium channels, respectively. Groups 1, 2 and 3 denote bladder mucosae obtained from the patients suffering with genuine stress urinary incontinence (SUI), SUI with urgency and frequency, and mixed incontinence, respectively. *: p<0.05 vs. the control, †: p<0.05 vs. group 1, ‡: p<0.05 vs. group 2.

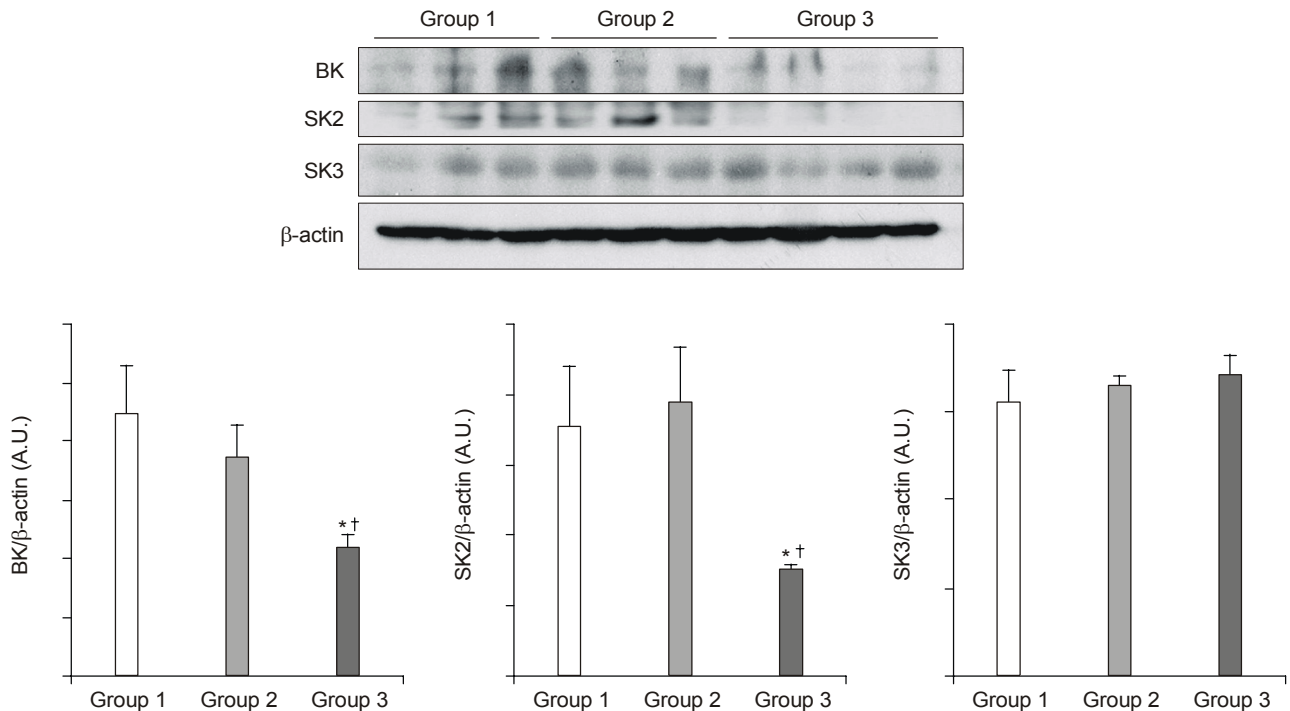


Fig. 3. Expressions of BK, SK2 and SK3 proteins, corrected for β -actin, in each sample. Values are shown in arbitrary units (A.U.) as the mean \pm SE of human bladder mucosae. BK and SK represent large- and small-conductance calcium activated potassium channels, respectively. Groups 1, 2 and 3 denote bladder mucosae obtained from the patients suffering with genuine stress urinary incontinence (SUI), SUI with urgency and frequency, and mixed incontinence, respectively. *: $p < 0.05$ vs. group 1, \dagger : $p < 0.05$ vs. group 2.

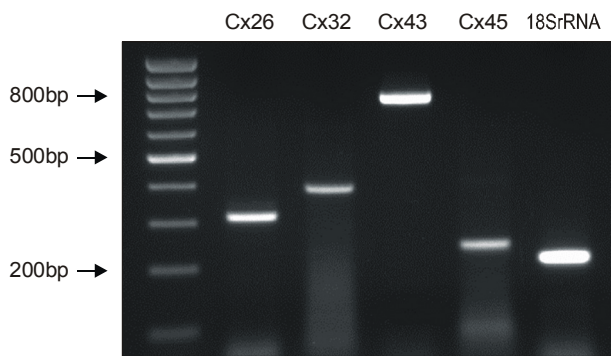


Fig. 4. Ethidium bromide-stained gel of the polymerase chain reaction (PCR) products for connexin (Cx)26, Cx32, Cx43 and Cx45 in human bladder mucosae.

실금에 동반하여 과민성방광 증상 중 빈뇨와 요절박이 있는 2군에서는 BK, SK2, SK3 mRNA와 단백질 발현이 대조군이나 복합성요실금만 있는 1군과 차이를 보이지 않았다 (Fig. 2, 3). 그러나 빈뇨나 요절박과 더불어 절박성요실금을 동반한 복합성요실금이 있는 3군에서는 요실금이 없는 대조군에 비해 BK mRNA 발현이 현저히 낮았다. 또한, 3군에서의 SK2 mRNA 발현은 대조군과는 차이가 없었으나 1군과 2군에 비해 낮았고 (Fig. 2), 3군에서의 SK3 mRNA 발현

은 대조군과 2군에 비해 유의하게 낮았다 (Fig. 2). BK와 SK2 단백질 발현은 3군에서 1군과 2군보다 현저히 낮았으며, SK3 단백질 발현은 군 간에 차이를 보이지 않았다 (Fig. 3).

2. 방광점막의 코넥신 mRNA 및 단백질 발현 변화

방광점막에는 Cx26, 32, 43, 및 45mRNA가 발현되었으며 특히 Cx26과 Cx43mRNA 발현이 높았다 (Fig. 4). 복합성요실금만 있는 1군에서 대조군에 비해 Cx26mRNA 발현이 증가하였으나, Cx32, Cx43 및 Cx45mRNA 발현은 대조군과 통계적으로 유의한 차이가 없었다 (Fig. 5). 또한, K_{Ca} mRNA나 단백질 발현 양상과 마찬가지로 빈뇨와 요절박의 동반만으로는 코넥신 mRNA 발현에 차이를 보이지 않았다 (Fig. 5). 빈뇨나 요절박과 더불어 절박성요실금을 동반한 3군에서는 Cx26mRNA 발현이 1군과 2군에 비해 낮았으나 대조군과 차이가 없었으며, Cx43 유전자 발현은 2군에 비해 낮았으나 대조군이나 1군과 차이가 없었다 (Fig. 5). Cx43 단백질 발현은 mRNA 발현양상과 달리 과민성 방광 증상의 동반 유무에 영향을 받지 않았고, Cx26 단백질은 3군에서 1군에 비해 유의하게 높았다 (Fig. 6). Cx45 단백질은 본 실험조건에서는 측정되지 않았다.

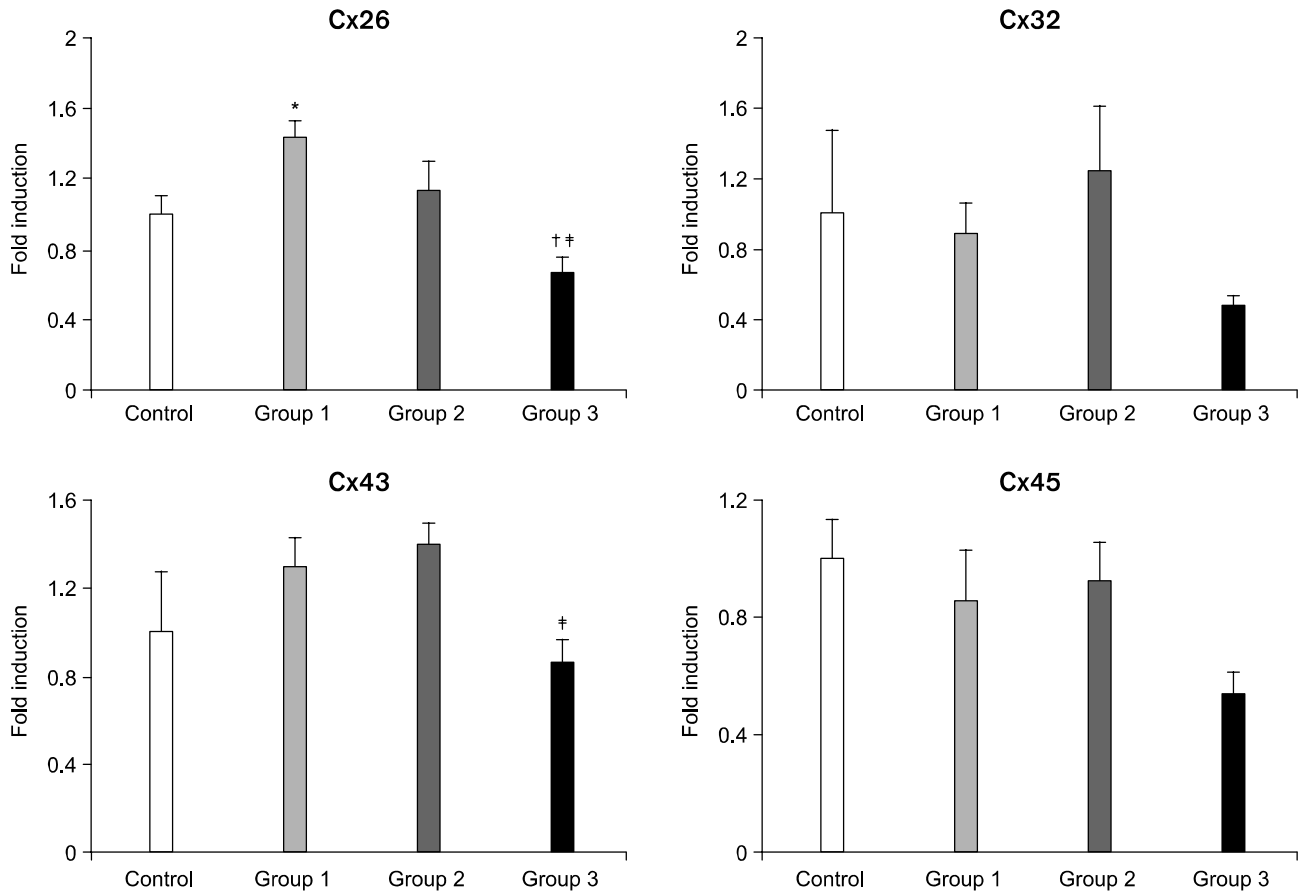


Fig. 5. Densitometric analyses of the polymerase chain reaction (PCR) products for connexin (Cx)26, Cx32, Cx43 and Cx45, corrected for the 18SrRNA value, in each sample. The results are expressed as the fold changes in mRNA (means±SE). Groups 1, 2 and 3 denote bladder mucosae obtained from the patients suffering with genuine stress urinary incontinence (SUI), SUI with urgency and frequency, and mixed incontinence, respectively. *: $p < 0.05$ vs. control, †: $p < 0.05$ vs. group 1, ‡: $p < 0.05$ vs. group 2.

고 찰

본 연구 결과 복합성요실금에 동반하여 빈뇨와 요절박만 동반한 경우에는 방광점막의 connexin (Cx)과 칼슘 민감성 포타슘(K^+) 통로(K_{Ca}) 아형들의 mRNA 발현과 단백질 발현이 대조군이나 복합성요실금 군과 차이가 없었으나, 절박성요실금까지 동반되어 과민성방광 증상의 정도가 심한 복합성요실금 군에서는 large conductance K_{Ca} (BK)와 type 2 small-conductance K_{Ca} (SK2)의 mRNA와 단백 발현이 현저히 감소하였다. Cx26의 mRNA 발현은 복합성요실금 군에서 복합성요실금만 있는 경우나 빈뇨와 요절박만 동반된 복합성요실금 군보다 현저히 낮았으며, Cx26 단백질 발현은 복합성요실금만 있는 경우보다 유의하게 높았다. 따라서, 복합성요실금 군에서의 Cx26mRNA 발현 감소는 단백 증가에 따른 이차적 현상으로 볼 수 있다.

K_{Ca} 아형들은 칼슘에 대한 민감도나 막전압 의존성 여부, 이온 전도도, 그리고 이온통로 차단제에 대한 특이성에 따라 BK, intermediate-conductance K_{Ca} (IK), SK로 나뉘지며, SK는 다시 SK1, SK2, 그리고 SK3의 세 가지 아형으로 분류된다.¹⁵ 본 연구 결과 방광점막에는 BK와 SK의 존재가 보고된^{16,17} 배뇨근과 같이 BK와 SK2 및 SK3 mRNA가 측정되었다. BK 발현을 억제한 실험동물에서 과민성 방광 증상이 유발되며,¹⁰ SK3가 정상 생쥐의 방광 평활근육과 요로상피에 분포하며, SK3를 과도하게 발현시킨 transgenic mice를 사용하여 SK3가 요 저장기 동안에 나타나는 불수의적인 방광수축 (non-voiding contraction) 조절에 관여할 가능성을 제시하였다.¹² 또한, Nakamura 등¹⁸은 쥐의 방광 평활근육세포에서 아세틸콜린 작용제인 carbachol에 의해 유도된 외향전류가 BK 차단제인 iberiotoxin에 의해 억제되고, M2 대항제에 의해서는 지속적으로 유지됨을 관찰하여, M3 수용체 자극에 대한 배뇨근 수축반응에 대한 M2 수용체의 강화작용

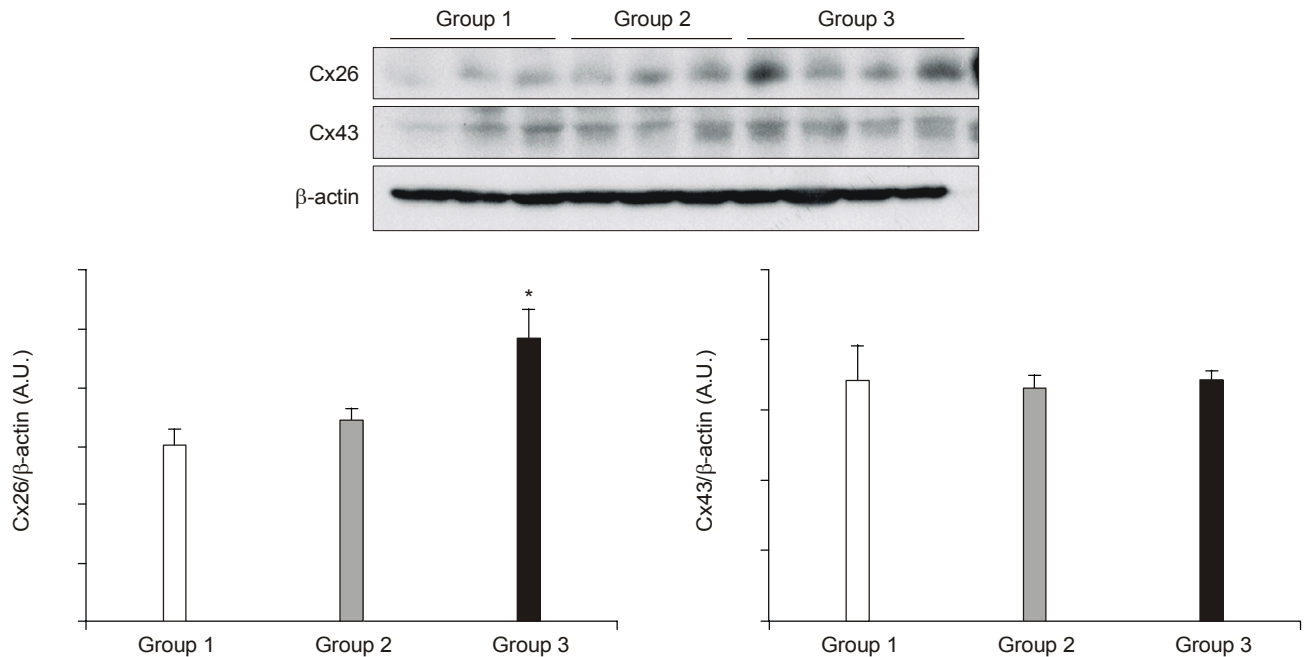


Fig. 6. Expressions of connexin (Cx)26, Cx43, and Cx45 proteins, corrected for β -actin, in each sample. Values are shown in arbitrary units (A.U.) as the mean \pm SE. Groups 1, 2 and 3 denote bladder mucosae obtained from the patients suffering with genuine stress urinary incontinence (SUI), SUI with urgency and frequency, and mixed incontinence, respectively. *: $p < 0.05$ vs. group 1.

이 BK를 억제하여 나타날 가능성을 제시하였다. 막전압을 과분극시켜 세포를 안정상태로 돌아가게 하는 K_{Ca} 의 주된 기능을 고려할 때, 과민성방광 증상이 심한 복잡성요실금 군에서 방광점막 BK와 SK2의 mRNA와 단백질발현의 감소는 방광점막에 분포하는 세포들의 흥분성을 증가시켜 세포-세포간 신호전달을 통한 통합 기능 수행을 촉진하여 과민성 방광 증상 유발에 관여할 가능성을 생각할 수 있다. SK2는 신경세포에만 주로 분포하는 SK1보다는 다양한 조직 즉, 부신, 전립선, 간, 신장 등에 분포하지만,¹⁷ 혈관 평활근육과 내피세포를 포함하여 거의 대부분의 조직에 분포하는 BK, SK3나 IK보다 조직 분포가 제한되어 있어 과민성방광의 효과적인 새로운 치료 표적이 될 수 있다.

Cx43과 Cx45는 배뇨근과 방광점막에 모두 분포하며,^{19,22} Cx26은 요로상피의 주요한 틈새이음 구성단백으로 알려져 있다.²²⁻²⁴ 본 연구에서도 요로상피와 요로상피 밑 조직으로 구성된 방광점막에서는 Cx32나 Cx45에 비해 Cx26과 Cx43의 mRNA 발현이 높았다. 방광하부 요로 폐색한 쥐에서 요축적에 따른 방광내압 증가로 Cx43의 mRNA와 단백질 발현은 배뇨근에서 유의하게 증가되었고^{21,24} 요로상피에서는 변화가 없으며,²⁴ Cx26의 유전자와 단백질 발현이 요로상피에서 모두 증가됨이 보고되었다.²⁴ 사람의 방광점막에서도 Cx43 단백질 발현은 군 간에 차이가 없었으나, Cx26 단백질은 복잡성 요실금에 절박성요실금이 동반된 혼합 요실금 군에서 현저

히 높았다. 이 결과는 사람의 방광에서도 배뇨근, 요로상피 등 부위별로 Cx의 발현이 독특하게 조절되며, 요로상피에서의 Cx26 증가로 요로상피세포간의 기능적 연결 증대에 따라 세포-세포 신호전달이 촉진되어 과민성방광 증상 유발에 관여할 가능성을 제시하고 있다.

본 연구에서 복잡성요실금에 절박성요실금이 동반된 경우와 달리 요절박만 동반된 경우에서 통계적으로 유의한 변화를 보이지 않은 것은, 과민성 방광 증상과 배뇨근과활 동성을 재현한 요역동학검사 간의 상관관계가 절박성요실 금이 동반된 경우 요절박만이 동반된 경우에 비해 더 높다는 보고²⁵에 근거하여 과민성 방광 증상의 정도에 적응하여 방광점막에서 BK, SK2와 Cx26의 발현이 변화되는 것으로 추정할 수 있다.

결 론

복합성요실금에 동반된 과민성방광 증상의 정도에 따라 방광점막의 칼슘 민감성 K^+ 통로 아형들과 코넥신의 유전자 및 단백질 발현을 비교해 본 결과, 과민성방광 증상의 정도가 가장 심한 복잡성요실금 군에서 BK와 SK2의 mRNA 및 단백질 발현이 유의하게 감소하였고 Cx26 단백질 발현은 현저히 증가됨을 확인하였다. 이상의 결과는 과민성방광 증상 정도에 적응하여 방광점막에서 BK, SK2와 Cx26의 발현 변

화를 통해 방광점막에 분포하는 세포들의 세포-세포 간 신호전달을 통한 통합 기능 수행을 촉진하여 과민성방광 증상 유발에 관여할 가능성을 시사하고 있다.

REFERENCES

1. Badawi JK, Langbein S. Current diagnostics and therapy of the overactive bladder and urge incontinence. *Dtsch Med Wochenschr* 2005;130:1503-6
2. Kumar V, Cross RL, Chess-Williams R, Chapple CR. Recent advances in basic science for overactive bladder. *Curr Opin Urol* 2005;15:222-6
3. Herbison P, Hay-Smith J, Ellis G, Moore K. Effectiveness of the anticholinergic drugs compared with placebo in the treatment of overactive bladder: systemic review. *BMJ* 2003;326: 841-4
4. Chess-Williams R. Potential therapeutic targets for the treatment of detrusor overactivity. *Expert Opin Ther Targets* 2004; 8:95-106
5. Araki I, Du S, Kamiyama M, Mikami Y, Matsushita K, Komuro M, et al. Overexpression of epithelial sodium channels in epithelium of human urinary bladder with outlet obstruction. *Urology* 2004;64:1255-60
6. de Groat WC. The urothelium in overactive bladder: passive bystander or active participant? *Urology* 2004;64(6 Suppl 1):7-11
7. Levin RM, Monson FC, Haugaard N, Buttyan R, Hudson A, Roelofs M, et al. Genetic and cellular characteristics of bladder outlet obstruction. *Urol Clin North Am* 1995;22:263-83
8. Malkowicz SB, Wein AJ, Elbadawi A, Van Arsdalen K, Ruggieri MR, Levin RM. Acute biochemical and functional alterations in the partially obstructed rabbit urinary bladder. *J Urol* 1986;136:1324-9
9. Thorneloe KS, Meredith AL, Knorn AM, Aldrich RW, Nelson MT. Urodynamic properties and neurotransmitter dependence of urinary bladder contractility in the BK channel deletion model of overactive bladder. *Am J Physiol Renal Physiol* 2005; 289:F604-10
10. Meredith AL, Thorneloe KS, Werner ME, Nelson MT, Aldrich RW. Overactive bladder and incontinence in the absence of the BK large conductance Ca^{2+} -activated K^{+} channel. *J Biol Chem* 2004;279:36746-52
11. Gopalakrishnan M, Shieh CC. Potassium channel subtypes as molecular targets for overactive bladder and other urological disorders. *Expert Opin Ther Targets* 2004;8:437-58
12. Herrera GM, Pozo MJ, Zvara P, Petkov GV, Bond CT, Adelman JP, et al. Urinary bladder instability induced by selective suppression of the murine small conductance calcium-activated potassium (SK3) channel. *J Physiol* 2003;551:893-903
13. Karicheti V, Christ GJ. Physiological roles for K^{+} channels and gap junctions in urogenital smooth muscle: implications for improved understanding of urogenital function, disease and therapy. *Curr Drug Targets* 2001;2:1-20
14. van Baren MJ, Heutink P. The PCR suite. *Bioinformatics* 2004;20:591-3
15. Ashcroft FM. Ion channels and disease. San Diego: Academic Press; 2000;125-60
16. Trivedi S, Potter-Lee L, Li JH, Yasay GD, Russell K, Ohmacht CJ, et al. Calcium dependent K -channels in guinea pig and human urinary bladder. *Biochem Biophys Res Commun* 1995;213:404-9
17. Chen MX, Gorman SA, Benson B, Singh K, Hieble P, Michel MC, et al. Small and intermediate conductance $Ca(2+)$ -activated K^{+} channels confer distinctive patterns of distribution in human tissues and differential cellular localisation in the colon and corpus cavernosum. *Naunyn-Schmiedeberg Arch Pharmacol* 2004;369:602-15
18. Nakamura T, Kimura J, Yamaguchi O. Muscarinic M2 receptors inhibit Ca^{2+} -activated K^{+} channels in rat bladder smooth muscle. *Int J Urol* 2002;9:689-96
19. Sui GP, Coppen SR, Dupont E, Rothery S, Gillespie J, Newgreen D, et al. Impedance measurements and connexin expression in human detrusor muscle from stable and unstable bladders. *BJU Int* 2003;92:297-305
20. Sui GP, Rothery S, Dupont E, Fry CH, Severs NJ. Gap junctions and connexin expression in human suburothelial interstitial cells. *BJU Int* 2002;90:118-29
21. Kim JC, Kim DB, Seo SI, Park YH, Hwang TK. Effects of connexin expression on unstable bladder after relief of bladder outlet obstruction in rat. *Korean J Urol* 2003;44:585-91
22. Tawadros T, Meda P, Leisinger HJ, Waeber G, Haefliger JA. Connexin26 is regulated in rat urothelium by the scaffold protein IB1/JIP-1. *Cell Commun Adhes* 2001;8:303-6
23. Gee J, Tanaka M, Grossman HB. Connexin 26 is abnormally expressed in bladder cancer. *J Urol* 2003;169:1135-7
24. Haefliger JA, Tissieres P, Tawadros T, Formenton A, Beny JL, Nicod P, et al. Connexins 43 and 26 are differentially increased after rat bladder outlet obstruction. *Exp Cell Res* 2002; 274:216-25
25. Abrams P. Describing bladder storage function: overactive bladder syndrome and detrusor overactivity. *Urology* 2003; 62(5 Suppl 2):28-37