

# 흰쥐에서 방광출구폐색으로 유발된 과활동성방광에서 무스카린수용체 아형에 대한 길항제의 효과

## The Effect of Muscarinic Receptor Subtype Antagonists on Detrusor Overactivity Induced by Bladder Outlet Obstruction in Rats

Su Jin Kim, Tae-Kon Hwang, Joon Chul Kim

From the Department of Urology, College of Medicine, The Catholic University of  
Korea, Seoul, Korea

**Purpose:** We studied the role of the muscarinic receptor subtype on the urothelium and detrusor activity in rats with detrusor overactivity induced by bladder outlet obstruction (BOO).

**Materials and Methods:** Forty Sprague-Dawley rats were used for this study. They were divided into 15 controls and 25 experimental rats. Partial BOO was induced for 3 weeks and a sham operation was performed on the control group animals. A cystometrogram (CMG) was performed in 20 BOO and 10 control rats. During the CMG, M2 selective muscarinic receptor antagonist (methoctramine) and nonselective muscarinic receptor antagonist (tolterodine) drugs were administrated intravesically. The contraction intervals and pressure were evaluated. Bladder muscle strips were prepared from five BOO and five control rats. The contractile responses were evaluated at 2-, 4-, 8-, 16-, and 32Hz field stimulation in the control and BOO groups and after administration of the methoctramine and tolterodine.

**Results:** The results of the CMG showed that the rats in the BOO group had a decreased contraction interval and increased contraction pressure compared to the control group ( $p < 0.05$ ). The contraction intervals were increased after intravesical administration of methoctramine and tolterodine compared to the BOO group ( $p < 0.05$ ). However, the contraction pressures were similar among the methoctramine, tolterodine and BOO groups. For the muscle strip study, the BOO group demonstrated increased contractile responses compared to the control group ( $p < 0.05$ ). However, the contractile responses were decreased after administration of methoctramine (only in 32Hz) and tolterodine ( $p < 0.05$ ).

**Conclusions:** The results of this study showed that detrusor overactivity induced by BOO in rats is primarily mediated by M3 muscarinic receptors in the detrusor muscle, and by M2 and M3 muscarinic receptors in the urothelium. (**Korean J Urol 2007;48:1044-1049**)

**Key Words:** Muscarinic receptor, Overactive detrusor, Urothelium, Bladder outlet obstruction

대한비뇨기과학회지  
제 48 권 제 10 호 2007

가톨릭대학교 의과대학  
비뇨기과학교실

김수진 · 황태곤 · 김준철

접수일자 : 2007년 6월 15일  
채택일자 : 2007년 8월 30일

교신저자: 김준철  
가톨릭대학교 강남성모병원  
비뇨기과  
서울시 서초구 반포동 505  
☎ 137-040  
TEL: 02-590-2633  
FAX: 02-599-7839  
E-mail: kjc@catholic.ac.kr

### 서 론

배뇨는 무스카린 수용체, 구심성 C 섬유 신경, 비콜린성 비아드레날린성 기전, 요로상피의 신호전달과정, 배뇨에 관

련된 중추신경계의 작용 등에 의해 조절된다.<sup>1</sup> 특히 부교감 신경계에 작용하여 방광의 수축에 관여하는 방광 내의 무스카린 수용체가 배뇨작용과 밀접하게 관련되어 있으며 5 가지 무스카린 수용체의 아형 중 M2와 M3 아형이 주로 방광근에 존재한다. 방광근에 존재하는 무스카린 수용체 중

M2 아형과 M3 아형이 3:1의 비율로 구성되어 있고 방광의 수축에는 M3 무스카린 수용체가 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다.<sup>2,4,6</sup> 따라서 그동안 과민성방광의 치료는 주로 M3 무스카린 수용체를 길항하는 데에 초점을 맞추어 이루어지고 있다. 그러나 M3 무스카린 수용체 길항제를 사용한 후에도 과민성방광 환자에서 증상이 호전되지 않는 경우가 관찰되고 있어 M3 무스카린 수용체와 더불어 방광의 이완과 수축에 영향을 미치는 다른 요인들에 대한 관심과 연구가 증가되고 있다.<sup>3</sup>

이전까지 방광의 수축에 대한 M2 무스카린 수용체의 역할은 미미한 것으로 알려져 왔으나 최근 연구에 따르면 M3 무스카린 수용체와 더불어 M2 무스카린 수용체도 방광의 수축에 영향을 줄 수 있음이 밝혀졌다. 또한 정상 방광의 수축에 M3 무스카린 수용체가 주된 작용을 하지만 방광출구폐색 후 배뇨근과활동성을 보이는 경우에는 M2 무스카린 수용체도 방광의 수축에 중요한 역할을 하는 것으로 보고되고 있다.<sup>4</sup>

방광상피는 그동안 소변과 혈장 사이의 수동적인 투과장벽으로만 여겨져 왔으나 최근 방광의 수축과 이완에 중요한 역할을 담당하는 것으로 알려지고 있다. 즉 조직학적으로 구심성 신경섬유가 방광상피와 근접하게 위치하며, 방광상피 자체는 neuron-like한 성질을 보이게 된다. 방광상피는 방광의 충만과 확장 시 외부 자극에 대하여 신경 전달 물질을 분비할 뿐 아니라 여러 가지 수용체를 발현시키게 되며, 최근 무스카린 수용체가 방광근 외에 방광상피층에도 존재하는 것으로 보고되고 있다.<sup>7-10</sup>

이에 저자들은 M2 무스카린 수용체 길항제인 methoctramine과 임상에서 과민성 방광의 치료제로 사용되고 있는 비선택적 무스카린 수용체 길항제인 tolterodine<sup>11-13</sup>을 이용하여 방광출구폐색으로 배뇨근과활동성이 유발된 쥐에서 방광근과 방광상피에 존재하는 무스카린 수용체 아형에 따른 역할에 대하여 알아보하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 재료

실험 동물은 250-300g의 Sprague-Dawley계 수컷 흰쥐 40마리를 사용한다. 대조군 15마리와 실험군 25마리로 나누었고, 대조군은 sham 수술을 시행한 동물을 사용하였다. 실험군은 방광경부 부분폐색을 시키고 3주간 관찰하였다.

### 2. 방광경부 부분폐색

실험동물은 ketamine/xylazine을 근육주사하여 마취시킨 후 양와위에서 하복부를 종절개하여 방광경부 및 요도주위를

를 박리하였다. 25G angioneedle sheath를 사용하여 요도주위에 유치한 후 방광경부를 3-0 봉합사로 결찰하고 angioneedle sheath를 제거하여 부분폐색을 일으킨 후 복부절개 부위를 봉합하였다. Sham 동물은 방광경부를 느슨하게 결찰하여 방광출구 폐색이 없도록 유도하였다.

### 3. 방광기능검사

폐색 3주 후 각 군의 실험동물에서 방광기능검사를 시행하였다. Urethan을 피하 주사하여 마취시킨 후 복부를 종절개하고 25G needle을 방광상부를 통하여 방광 내로 유치시킨 후 Harvard syringe pump를 이용하여 생리식염수를 0.04 ml/min의 속도로 sham 수술을 시행한 쥐 10마리와 방광경부 부분폐색을 유발시킨 쥐 20마리의 방광 내로 주입하였다. 방광의 압력을 변환기를 통해 Polygraph (Grass 7D, Grass Inst. Co., Quincy, USA)에 기록하였으며, 수축간격 및 방광수축력을 분석하였다. 방광경부 부분폐색이 유발된 10마리를 대상으로 Harvard syringe pump를 멈추고 방광을 비운 후 penile clamp를 시행하여 배뇨를 못하도록 하고, M2 무스카린 수용체 길항제인 methoctramine 4  $\mu$ M을 포함하고 있는 생리식염수 0.2ml를 방광상부에 유치된 25G needle을 이용하여 방광 내 투여하였다. 방광 내 약물 투여 1시간 후 다시 Harvard syringe pump를 이용하여 생리식염수를 0.04ml/min의 속도로 방광 내로 주입하여 방광의 압력을 변환기를 통해 기록하였다. 나머지 10마리의 쥐에게는 비선택적 무스카린 수용체 길항제인 tolterodine 0.2  $\mu$ M을 같은 방법으로 방광 내로 투여한 후 결과를 기록하였다.

### 4. 방광 무게 측정

실험군과 대조군에서 방광기능검사 후 방광삼각대 직상방의 방광을 적출하였다. 이때 방광과 인접한 혈관과 결체조직을 완전히 박리하여 순수한 방광만을 제거하여 무게를 측정하였다.

### 5. 근육 절편 만들기

폐색 3주 후 10마리의 실험동물은 경추탈골로 희생시킨 후 하복부에 종절개를 가하여 방광삼각대 직상방의 방광을 적출하였다. 이때 방광과 인접한 혈관과 결체조직을 완전히 박리하여 순수한 방광만을 제거하였다. 적출된 방광의 무게를 측정하고 방광에 종절개를 가하여 넓게 편 후 방광체부에서 종으로 3x10mm의 절편을 두 개 또는 세 개를 취하였다.

### 6. 방광 수축력 측정

절취한 각 군의 방광근 절편을 30ml의 Tyrode's solution이

담긴 수조에 종으로 길게 매달았다. 조직의 한 쪽 끝은 고정하고 다른 한 쪽 끝은 변환기에 연결하였으며, 이때 조직은 마주보는 두 개의 백금판 사이에 위치시켜 전기자극 시 조직이 자극될 수 있도록 하였다. 수조는 37°C로 유지하고 95% O<sub>2</sub>와 5% CO<sub>2</sub>를 통기시키면서 1g의 장력을 가한 상태로 60분간 평형을 유지시켰다. 그 후 3분 간격으로 2, 4, 8, 16, 32Hz의 전장자극(80V, 1msec duration)을 30초간 가하여 최대 수축력을 측정하였다. 전장자극이 끝난 후 10분간 안정시키고 약물반응에 대한 검사로 methoctramine 0.6  $\mu$ M 및 tolterodine 0.04  $\mu$ M을 투여하여 전기 자극을 준 후 각각의 수축력을 측정하였다. 이들 자극에 대한 반응은 force transducer를 통해 polygraph(Grass 7D, Grass Inst. Co., Quincy, USA)에 기록하였으며, 모든 수축력은 방광조직 100mg에 대한 수축력으로 교정하여 g tension으로 표시하였다.

### 7. 약물 및 투여 방법

실험동물의 마취에 사용된 약물로 ketamine은 15mg/kg, xylazine은 5mg/kg으로 혼합하여 ketamine/xylazine을 사용하였으며 urethane은 12mg/kg으로 사용하였다. 방광기능검사에서 방광내로 주입한 약물은 다음과 같다. M2 무스카린 수용체 길항제는 methoctramine (Sigma, Saint Louis, USA)을 사용하였다. 비선택적 무스카린 수용체 길항제는 tolterodine (Pfizer Inc., USA)을 사용하였다. 요역동학검사에서 투여한 약물 중 methoctramine은 0.5  $\mu$ M에서 시작하여 2배씩 농도를 증가시켜 투여하여 최대 반응을 보이는 농도인 4  $\mu$ M을 선택하여 약물을 투여하였다. 같은 방법으로 하여 tolterodine은 0.05  $\mu$ M에서 시작하여 0.2  $\mu$ M을 선택하였다. 방광근 절편을 이용한 수축 실험에서도 마찬가지로 methoctramine은 0.075  $\mu$ M에서 시작하여 2배씩 농도를 증가시켜 투여하여 최대 반응을 보이는 농도인 0.6  $\mu$ M을 선택하였다. Tolterodine은 0.01  $\mu$ M에서 시작하여 최대 반응을 보이는 농도인 0.04  $\mu$ M을 선택하였다. 전기 자극 후 방광 수축력 측정을 위한 생리학적인 배지로 NaCl 124.9mM, KCl 2.6 mM, NaHCO<sub>3</sub> 23.8mM, MgCl<sub>2</sub> · 6H<sub>2</sub>O 0.5mM, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> · H<sub>2</sub>O 0.4mM, dextrose 5.5mM and CaCl<sub>2</sub> 1.8mM으로 구성된 Tyrode's solution을 사용하였다.

### 8. 통계처리

실험성적은 모두 평균±표준오차(mean±SEM)로 표시하였고 통계는 Sigma stat for Window 프로그램을 이용하였다. 통계학적 분석은 방광기능검사 결과는 분산분석법(ANOVA)을 이용하여 분석하고, 각 군 간의 비교는 Neuman-Keuls' multiple comparison test를 시행하였다. 방광무게 변화는 Student's t-test를 이용하여 분석하였으며, p값이 0.05 미만일

때 유의있는 것으로 판정하였다.

## 결 과

### 1. 방광 무게의 변화

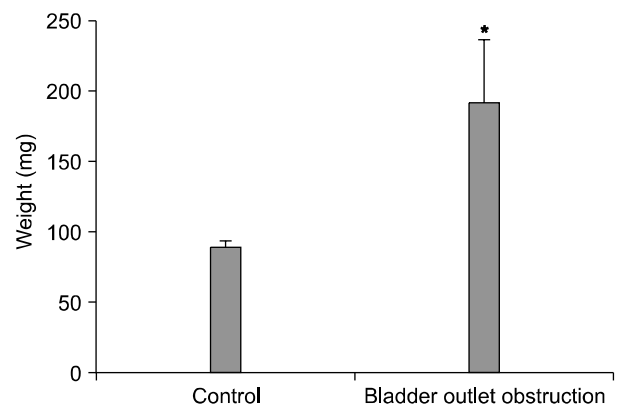
방광의 무게는 대조군이 87.9±1.243mg, 폐색군이 192.3±10.6mg으로 폐색군에서 대조군에 비해 유의하게 증가하였다(Fig. 1) (p<0.05).

### 2. 방광기능검사

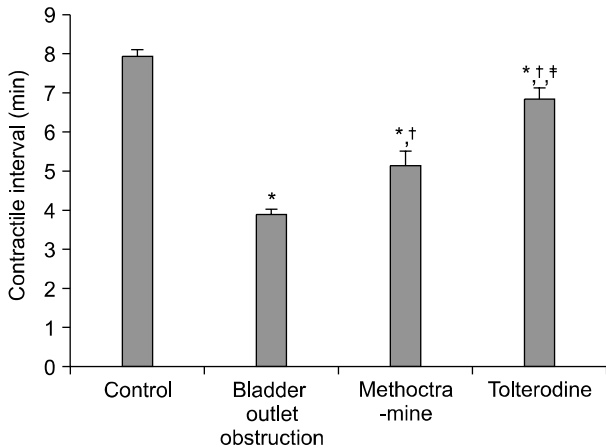
방광기능검사항 수축간격은 대조군이 7.9±1.0분, 폐색군이 3.9±0.1분으로 폐색군에서 대조군에 비하여 감소하였다(p<0.05). Methoctramine 투여군에서는 5.1±0.4분, tolterodine 투여군은 6.8±0.3분으로 methoctramine 투여군과 tolterodine 투여군에서 모두 폐색군에 비하여 유의하게 증가하였다(p<0.05). 또한 tolterodine 투여군은 methoctramine 투여군보다 수축간격이 유의하게 증가하였다(Fig. 2) (p<0.05). 수축력은 대조군이 11.14±0.2mmHg, 폐색군이 13.9±0.6mmHg으로 폐색군에서 대조군에 비하여 증가(p<0.05)하였으나 methoctramine 투여군(13.1±0.5mmHg), tolterodine 투여군(13.7±0.5mmHg)은 모두 폐색군과 비교 시 차이가 없었다(Fig. 3).

### 3. 방광 수축력 측정

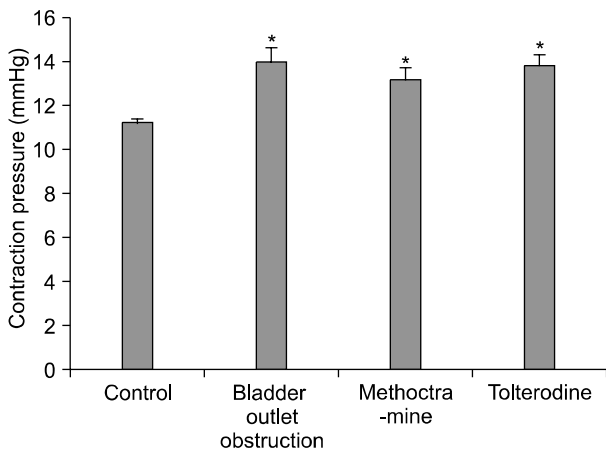
2Hz의 전기 자극을 준 경우만 제외하고 방광의 수축력은 4, 8, 16, 32Hz 전기 자극을 주었을 때 모두 대조군보다 폐색군에서 유의하게 증가하였다(p<0.05). 4, 8, 16Hz에서 methoctramine 투여군은 폐색군보다 유의한 수축력의 감소가



**Fig. 1.** The changes of bladder weight in the controls and bladder outlet obstruction. The bladder weight of the BOO group was significantly higher than that of control group. The data were expressed as mean±SEM. \*: p<0.05 as compared with control, BOO: bladder outlet obstruction.

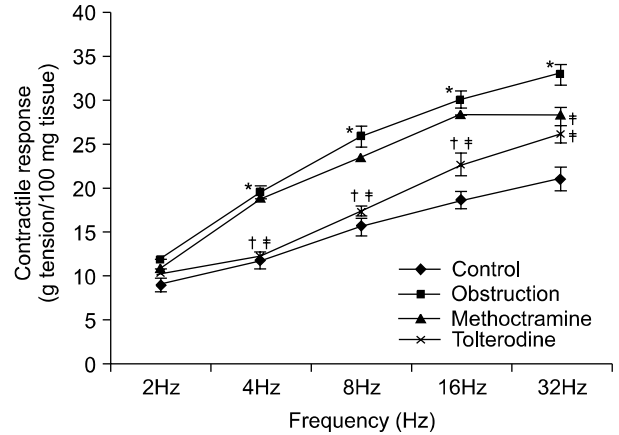


**Fig. 2.** The changes of the contraction interval in the control, BOO, methoctramine, and tolterodine group. The contraction interval in the BOO group decreased significantly compared with the control group. However, the contraction interval of methoctramine and tolterodine treated group increased compared with the BOO group. The data were expressed as mean±SEM. \*:  $p < 0.05$  as compared with control group, †:  $p < 0.05$  as compared with BOO group, ‡:  $p < 0.05$  as compared with methoctramine group, BOO: bladder outlet obstruction.



**Fig. 3.** The changes of contraction pressure in the control, BOO, methoctramine, and tolterodine group. The contraction pressure of the BOO group increased significantly compared with the control group. The contraction pressure of the methoctramine and tolterodine treated group was similar to the BOO group. The data were expressed as mean±SEM. \*:  $p < 0.05$  as compared with control group, BOO: bladder outlet obstruction.

관찰되지 않았으나 tolterodine 투여군은 폐색군에 비해 유의하게 수축력이 감소하였다 ( $p < 0.05$ ). 또한 4, 8, 16Hz에서 tolterodine 투여군은 methoctramine 투여군보다 수축력이 유의하게 감소하였다 ( $p < 0.05$ ). 32Hz에서는 methoctramine 투여군과 tolterodine 투여군 모두에서 폐색군보다 유의한 수



**Fig. 4.** The contractile response of the bladder muscle strip to 2-, 4-, 8-, 16-, and 32Hz field stimulation in the control, obstruction, methoctramine, and tolterodine group. The data were expressed as mean±SEM. \*:  $p < 0.05$  as compared with control group, †:  $p < 0.05$  as compared with BOO group, ‡:  $p < 0.05$  as compared with methoctramine group, BOO: bladder outlet obstruction.

축력의 감소 ( $p < 0.05$ )가 관찰되었으며 methoctramine 투여군의 수축력과 tolterodine 투여군의 수축력에는 유의한 차이가 관찰되지 않았다 (Fig. 4).

## 고 찰

본 연구를 통해 저자들은 방광출구폐색으로 배뇨근과 활동성을 유발한 쥐에서 M2 및 M3 무스카린 수용체 아형에 대한 길항제가 방광근과 방광상피에서 어떠한 역할을 하는지 알아보았다.

우선 폐색군에서 유의하게 방광의 무게가 증가하여 방광출구폐색에 의한 방광벽의 비후를 확인할 수 있었다. 또한 방광기능검사상 수축간격은 대조군에 비해 폐색군에서 유의하게 감소하고 수축력은 폐색군에서 유의하게 증가하여 배뇨근과 활동성이 형성됨을 확인할 수 있었다. 배뇨근과 활동성이 형성된 것을 확인 후 방광기능검사와 방광근 수축력 측정 시 M2 무스카린 수용체 길항제는 methoctramine을 그리고 비선택적 무스카린 수용체는 tolterodine을 연구에 사용하였다. Methoctramine은 임상적으로 사용되고 있지는 않으나 M2 무스카린 수용체만을 선택적으로 억제시킬 수 있는 약제로서 M2 무스카린 수용체와 관련된 연구에 유용하게 사용되고 있는 물질이다. Tolterodine은 비선택적 무스카린 수용체 길항제로 M2와 M3뿐만 아니라 M1, M4, 및 M5 무스카린 수용체를 모두 억제하는 작용을 가지고 있으며, 실제로 임상에서 과민성 방광의 치료제로 가장 흔하게 사용되고 있는 약제 중의 하나이다. 또한 과민성 방광의 치

료에 사용되는 다른 무스카린 수용체 길항제에 비하여 부작용이 적은 것으로 알려져 있다.<sup>11-13</sup> Methoctramine과 tolterodine을 방광 내 투여 후 방광기능검사를 시행한 결과 수축 간격의 증가는 관찰되었으나 수축력의 감소는 관찰되지 않았다. 이러한 결과는 방광 내 주입한 약물이 방광상피에 작용을 하고 방광근에는 영향을 미치지 않았으며 방광상피에도 무스카린 수용체가 존재한다는 점을 간접적으로 보여주 고 있다. 현재 M3 무스카린 수용체는 방광의 수축에 주된 역할을 하는 것으로 알려져 있으나<sup>14-16</sup> 최근 여러 연구에서 기능적 이상을 보이는 방광 질환이 있는 경우 지금까지 보조적인 역할만을 한다고 여겨진 M2 무스카린 수용체가 주된 작용을 할 수 있다는 가능성이 제시되었다.<sup>17-20</sup> 이를 뒷받침하는 연구 결과로 양측 골반 신경절을 제거하여 탈신경화된 방광 모델을 이용하여 방광용적의 증가와 방광근의 비대가 유발된 쥐의 방광에서 M2 무스카린 수용체의 밀도가 선택적으로 증가하는 것이 관찰되었다.<sup>18</sup> 또한 Pontari 등<sup>19</sup>은 배뇨근과활동성이 관찰되는 6명의 경추 척수 손상 환자와 1명의 척수 수막류 환자의 방광근을 얻어 M2와 M3 무스카린 수용체 길항제를 각각 투여 후 수용체에 대한 친화력을 정상 방광근과 비교하여 본 결과, 4명의 경추 척수 손상 환자와 척수 수막류 환자에서 M2 무스카린 수용체 길항제에 대한 친화력이 M3 무스카린 수용체 길항제와 비슷하게 관찰되었다고 하였다. 그러나 정상 방광근에서는 M3 무스카린 수용체에 대한 친화력이 더 높게 관찰되어 신경계 질환에 의하여 발생된 과민성 방광에서 M2 무스카린 수용체가 중요한 역할을 할 것이라고 보고하였다. 앞의 연구와는 다르게 저자들은 방광출구폐색으로 유발된 배뇨근과활동성의 경우를 대상으로 하였다. 그러나 신경계 질환에 의해 유발된 배뇨근과활동성의 경우와 마찬가지로 방광기능검사상 methoctramine 투여군에서 수축간격의 증가가 관찰되어 방광상피에 존재하는 M2 무스카린 수용체가 배뇨근과활동성에 관여한다는 것을 간접적으로 관찰할 수 있었다. 또한 methoctramine 투여군보다 tolterodine 투여군에서 수축간격이 더 많이 증가하였다. 이를 통해 방광상피에서는 M2와 함께 M3 무스카린 수용체도 배뇨근과활동성에 역할을 하며, 그동안 수동적인 장벽으로만 여겨지던 방광상피가 최근의 다른 여러 연구 결과들과 마찬가지로 구심성 신경을 매개로한 신호 전달 과정을 통해 방광의 활동에 능동적인 역할을 하는 것으로 생각한다. 즉 무스카린 수용체가 존재하는 방광상피는 감각 기능이 있으며 자극에 반응하여 분비된 신경전달물질이 방광상피의 무스카린 수용체에 작용하여 방광의 활동을 조절할 수 있다는 것이다.<sup>7-10</sup>

저자들의 연구 결과 방광근 절편에 전기 자극을 준 경우에는 2Hz만을 제외한 모든 폐색군에서 유의하게 방광근 수

축력의 증가가 관찰되어 배뇨근과활동성이 형성됨을 확인하였다. 4, 8, 16Hz에서 methoctramine 투여군은 폐색군에 비해 수축력이 유의하게 감소하지 않았으나 tolterodine 투여군은 폐색군, methoctramine 투여군보다 수축력이 모두 의미 있게 감소하였다. 그러나 32Hz에서는 methoctramine 투여군, tolterodine 투여군 모두에서 방광근의 수축력이 폐색군에 비하여 의미 있게 감소하였다. 따라서 방광출구폐색으로 인한 배뇨근과활동성에서 방광근의 수축은 M3 무스카린 수용체에 의하여 주로 조절이 되며 M2 무스카린 수용체의 역할은 상대적으로 적은 것으로 생각한다.

이상의 연구결과에서 M3 무스카린 수용체뿐만 아니라 M2 무스카린 수용체도 방광출구폐색으로 유발된 배뇨근과활동성을 조절하는 것이 관찰되었다. 특히 methoctramine 투여 시 방광근의 수축력 감소는 강한 전기 자극하에서만 관찰되나 방광기능검사상 유의한 수축 간격의 증가를 보이므로 M2 무스카린 수용체는 방광근보다 방광상피에서 주된 기능을 담당하는 것으로 여겨진다. 또한 tolterodine 투여군의 경우에는 방광기능검사와 방광근 절편에 전기 자극을 주었을 때 모두 배뇨근과활동성이 억제되어 M3 무스카린 수용체는 방광근뿐만 아니라 방광상피에서도 기능적인 작용을 나타내는 것으로 생각한다.

## 결 론

본 연구를 통해 저자들은 방광근에서는 M3 무스카린 수용체가 주된 역할을 하며 방광상피에서는 M2와 M3 무스카린 수용체가 모두 방광출구폐색으로 유발된 배뇨근과활동성을 조절하는 역할을 하는 것으로 생각한다. 향후 배뇨근과활동성 방광에서 M2 및 M3 무스카린 수용체의 존재를 면역학적 또는 분자생물학적 연구를 통해 확인하는 과정이 필요할 것으로 생각한다.

## REFERENCES

1. de Groat WC, Yoshimura N. Pharmacology of the lower urinary tract. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2001;41:691-721
2. Schneider T, Fetscher C, Krege S, Michel MC. Signal transduction underlying carbachol-induced contraction of human urinary bladder. *J Pharmacol Exp Ther* 2004;309:1148-53
3. Kumar V, Cross RL, Chess-Williams R, Chapple CR. Recent advances in basic science for overactive bladder. *Curr Opin Urol* 2005;15:222-6
4. Igawa Y. Discussion: functional role of M1, M2, and M3 muscarinic receptors in overactive bladder. *Urology* 2000;55 (5A Suppl):47-9

5. Chapple CR, Yamanishi T, Chess-Williams R. Muscarinic receptor subtypes and management of the overactive bladder. *Urology* 2002;60(Suppl 5A):82-9
6. Braverman AS, Tallarida RJ, Ruggieri MR Sr. Interaction between muscarinic receptor subtype signal transduction pathways mediating bladder contraction. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2002;283:R663-8
7. Lewis SA. Everything you wanted to know about the bladder epithelium but were afraid to ask. *Am J Physiol Renal Physiol* 2000;278:F867-74
8. de Groat WC. The urothelium in overactive bladder: passive bystander or active participant? *Urology* 2004;64(6 Suppl 1): 7-11
9. Kim Y, Yoshimura N, Masuda H, de Miguel F, Chancellor MB. Antimuscarinic agents exhibit local inhibitory effects on muscarinic receptors in bladder-afferent pathways. *Urology* 2005;65:238-42
10. Yoshida M, Inadome A, Maeda Y, Satoji Y, Masunaga K, Sugiyama Y, et al. Non-neuronal cholinergic system in human bladder urothelium. *Urology* 2006;67:425-30
11. Wefer J, Truss MC, Jonas U. Tolterodine: an overview. *World J Urol* 2001;19:312-8
12. Yono M, Yoshida M, Takahashi W, Inadome A, Ueda S. Comparison of the effects of novel antimuscarinic drugs on human detrusor smooth muscle. *BJU Int* 2000;86:719-25
13. Yokoyama O, Yusup A, Miwa Y, Oyama N, Aoki Y, Akino H. Effects of tolterodine on an overactive bladder depend on suppression of C-fiber bladder afferent activity in rats. *J Urol* 2005;174:2032-6
14. Igawa Y, Zhang X, Nishizawa O, Umeda M, Iwata A, Taketo MM, et al. Cystometric findings in mice lacking muscarinic M2 or M3 receptors. *J Urol* 2004;172:2460-4
15. Krichevsky VP, Pagala MK, Vaydovsky I, Damer V, Wise GJ. Function of M3 muscarinic receptors in the rat urinary bladder following partial outlet obstruction. *J Urol* 1999;161:1644-50
16. Yamanishi T, Chapple CR, Yasuda K, Chess-Williams R. The role of M2 muscarinic receptorsubtypes in mediating contraction of the pig bladder base after cyclic adenosine monophosphate elevation and/or selective M3 inactivation. *J Urol* 2002;167:397-401
17. Braverman AS, Ruggieri MR Sr. Hypertrophy changes the muscarinic receptor subtype mediating bladder contraction from M3 toward M2. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2003;285:R701-8
18. Braverman AS, Luthin GR, Ruggieri MR. M2 muscarinic receptor contributes to contraction of the denervated rat urinary bladder. *Am J Physiol* 1998;275:1654-60
19. Pontari MA, Braverman AS, Ruggieri MR Sr. The M2 muscarinic receptor mediates in vitro bladder contractions from patients with neurogenic bladder dysfunction. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2004;286:R874-80
20. Giglio D, Delbro DS, Tobin G. On the functional role of muscarinic M2 receptors in cholinergic and purinergic responses in the rat urinary bladder. *Eur J Pharmacol* 2001;428: 357-64