배뇨반사에서 퓨린수용체의 생리적, 병태생리적 기능

을지대학교 의과대학 비뇨기과학교실

김 대 경

Physiologic and Pathophysiologic Functions of Purinoceptors in Voiding Reflex

Dae Kyung Kim

From the Department of Urology, Eulji University College of Medicine, Daejeon, Korea

Purinergetic neurotransmission has been regarded as major component of non-adrenergic, non-cholinergic (NANC) contraction in detrusor smooth muscle. Although in normal human detrusor, this contraction seems to be small, the importance of the NANC component for detrusor contraction in disease conditions such as detrusor overactivity remains to be established. Based on many evidences for purinergetic contributions in lower urinary tract, ATP and purinoceptors has been suggested to be involved in both efferent and afferent mechanism in voiding reflex. ATP signaling via P2X1 receptors plays an important role in efferent neural control of urinary bladder function, although to varying degrees across species from experimental animals to men. The efferent function of purinoceptors may be enhanced in detrusor overactivity and aging. ATP also suggested being involved in mechanosensory transmission, via activation of P2X3 and P2X2/3 receptors on sensory afferent nerves. The afferent function of purinoceptors may be related with pathophysiology of overactive bladder or interstitial cystitis, mediating bladder hyperexcitability. These results suggest that the selective antagonists for the purinoceptors may offer better relief of sensory and motor symptoms for overactive bladder or interstitial cystitis patients in the future. (J Korean Continence Soc 2008;12:93-8)

Key Words: Purinergetic, Bladder, Overactivity

서 론

퓨린수용체는 세포막에 존재하며 P1, P2Y, P2X 수용체의 3가지로 분류된다 (Table 1). P2X수용체는 리간드 결합에 의해 이온 채널이 직접 열리는 작용기전을 가진 수용체 (ligand-gated ion channel receptor)이며, P1과 P2Y는 신경전달 물질이 세포막에서 G 단백질과 결합 후 2차 전달물질 (secondary messenger)을 거쳐 이어지는 연쇄 반응에 의해 특정한 효과

접수일자: 2008년 10월 15일
수정일자: 2008년 11월 25일
채택일자: 2008년 12월 1일
교신저자: 김대경, 을지대학교 의과대학 비뇨기과학교실
대전시 서구 둔산1동 1306 ☎ 302-799
Tel: 042-611-3529, Fax: 042-259-1111
E-mail: dkkim@eulji.ac.kr

Table 1. Classification of the members of the purinoceptors family

Name	Activation	Class
P1 receptors	Adenosine	G-protein-coupled receptors
P2Y receptors	ATP*, ADP ⁺ , UTP** DP ⁺⁺ , UDP-glucose	G-protein-coupled receptors
P2X receptors	ATP	Ligand-gated ion channel

*: adenosine triphosphate; ⁺: adenosine diphosphate

** : uridine triphosphate; ⁺⁺: uridine diphosphate

가 나타나게 되는 G 단백 결합형 수용체 (G-protein coupled receptor)이다. P1 수용체는 아형으로 A1과 A2 수용체가 있으며 아데노신 (adenosine)에 의해 활성화된다. P2Y 수용체는 현재까지 12개의 아형이 알려져 있으며 adenosine triphosphate (ATP), adenosine diphosphate (ADP), uridine triphosphate (UTP), uridine diphosphate (UDP), UDP-glucose 등에 의해 활성화된다. P2X 수용체는 현재까지 7개의 아형이 알려져 있으며, ATP에 의해 활성화된다 (1). P2X 수용체는 3개의 단백 복합체로 구성되는데, 모두가 같은 소단위 아형 단백질로 구성된 동종수용체 (homomeric receptor)와 2개 이상의 다른 소단위 아형 단백질이 결합된 이형수용체 (heteromeric receptor)가 존재한다 (2). 예를 들면, P2X1 수용체는 동일한 P2X1 소단위로 구성된 동종수용체이지만 P2X2/3 수용체는 P2X2와 P2X3 소단위 아형 단백질이 함께 존재하는 이형수용체이다.

퓨린수용체의 소단위 아형 단백질에 대한 면역형광염색 연구에서 방광근에는 P2X1,2,4 소단위 단백, 요로상피에는 P2X2,3,5 소단위 단백, 그리고 방광에 연결되는 말초신경에는 P2X1,2,3,5 소단위 단백질이 존재하는 것으로 나타났다. 이중 비교적 많은 분포를 보이며, 하부요로기능에 기여하는 것은 P2X1과 P2X3/P2X2/3 수용체이다 (3).

퓨린수용체는 정상 배뇨반사 및 병태 생리학에서의 배뇨반사에 관여하는 것이 알려져 있으며, 향후 새로운 하부요로증상 치료제 개발의 표적수용체로 주목 받고 있다. 본 종설에서는 퓨린수용체의 배뇨반사와 관련된 정상 생리 및 병태 생리 기능을 원심성 기능 (efferent function)과 구심성 기능 (afferent function)으로 나누어 현재까지의 연구 성과에 대해 정리해 보고자 한다.

본 론

퓨린수용체와 배뇨반사의 원심성 기능

배뇨반사의 원심성 기능, 즉 신경 자극에 의해 유도되는 방광근 수축 작용은 주로 부교감신경계와 관련된 콜린수용체에 의해 이루어지는 것으로 알려져 있다. 하지만 전기 자극에 의해 유발되는 방광수축 중 아트로핀으로 콜린수용체를 차단하였을 때에도 남아 있는, 즉 아트로핀에 저항성을 가지는 방광수축이 존재한다 (4). 이미 1970년대에 기니픽 평활근에서 아트로핀 저항성인 전기자극 유발 수축이 관찰되었으며, 이 수축은 교감신경 길항제에 의해서도 억제되지 않아 비아드레날린성 비콜린성 (non-adrenergic, non-cholinergic; NANC) 평활근 수축이라고 명명되었다. 이러한 NANC 평활근 수축은 기니픽 장에서 처음 발견되었고, 이후에 방광에서도 확인되었다 (5).

NANC 수축은 신경의 탈분극을 저해하는 tetrodotoxin (TTX) 투여시에는 억제되어 이 현상이 신경전달 물질의 매개에 의한 것임을 시사하였다. 이후 NANC 수축을 매개할 수 있는 여러 후보 전달물질에 대한 연구에서 ATP가 유력한 NANC 자극의 신경전달물질로서 연구자들의 주목을 받았다. 외부에서 주어진 ATP에 의해 NANC수축과 유사한 수축을 유발시키는 것이 가능하였으며 (5), ATP 분해효소에 의해 저항성을 가지는 ATP 유도체로서 ATP에 대한 경쟁적 길항제로 작용하는 alpha, beta-methylene ATP (α,β -meATP), 비특이적인 퓨린길항제인 quinidine, reactive blue 2, suramin, pyridoxalphosphate-6-azophenyl-20-40-disulfonic acid (PPADS) 등에 의해 NANC 수축이 차단되는 것이 관찰되었다 (6-10). 또한 방광근에 대한 직접적인 전기자극시 방광에서 ATP가 분비되었으며 (11), ATPase 저해제의 투여에 의해 NANC 방광근 수축이 강화되었다 (12,13). 방광근 세포에서 시행한 세포단위의 전기생리학적 기록 (electrophysiological recording) 실험에서도 ATP는 용량 의존적으로 세포막의 탈분극을 유도하며, 세포 내로의 전기흐름 (inward current)을 발생시켰다. 또한 α,β -meATP에 의한 탈분극 시 ATP 유발 전기흐름이 차단되었다 (14-16). 이러한 일련의 실험 결과들은 ATP가 NANC 자극을 매개하는 신경전달물질이라는 것을 강력히 시사하였다.

세포의 대표적인 에너지원인 ATP가 신경전달 물질로도

작용할 수 있다는 이론은 처음 제안되었을 당시에는 받아들이기 어려운 개념으로 인식되기도 하였다. 1990년대 중반 이후 퓨린수용체의 유전자 구조가 밝혀지고, 퓨린수용체 결핍 유전자 조작 생쥐를 이용한 실험이 활발하게 이루어지면서 퓨린수용체의 배뇨반사에 대한 기여는 학계에 널리 받아들여지게 되었다. P2X1 유전자 결핍 생쥐에서 방광내압 검사 시행 시 신경자극에 의한 방광 수축은 정상 생쥐에 비해 감소하지만, 카르바콜 (carbachol) 투여에 의해 매개된 콜린성 방광근 수축은 정상 생쥐와 유사하게 나타난다 (17).

인체 정상 방광에서 퓨린수용체의 존재가 RT-PCR을 통해 확인되었는데, 가장 많은 이형은 P2X1인 것으로 나타났다 (18,19). 사람에서는 퓨린수용체의 정상 방광수축에 대한 기여도는 극히 낮은 것으로 나타났으며, 연구자에 따라서는 전혀 없는 것으로 보고하기도 하였다 (20,21). 그러나 방광근과활동성이 있는 환자에서는 퓨린성 수축의 기여도가 증가하여, 많게는 50%에 달하는 것으로 보고되어 있다 (22).

이상에서 살펴본 바와 같이 퓨린수용체에 작용하는 ATP는 부교감신경계의 신경전달 물질인 아세틸콜린과 함께 배뇨반사의 원심성 반사축 (efferent limb)에 영향을 준다. 최근 보고에 의하면, 백서 방광근에서 카르바콜 투여는 퓨린성 반응을 감소시키며, 이에 따라 NANC 수축도 감소된다고 한다 (23). 이러한 현상은 배뇨반사의 방광수축에서 퓨린성 기여와 콜린성 기여가 상호 균형을 맞추고 있음을 시사한다. 사람에서 NANC 수축의 연령에 따른 변화를 살펴본 연구에서, 연령이 증가함에 따라 콜린성 수축의 강도는 감소하는 반면 NANC 수축의 강도는 증가하는 것으로 나타났으며 (24), 이는 퓨린성 기여와 콜린성 기여의 상호 균형이 존재함을 시사한다.

퓨린수용체와 배뇨반사의 구심성 기능

해부학적으로 방광의 감각신경 말단은 요로상피, 요로상피하 고유판 (suburothelial lamina propria), 방광평활근 등과 접촉하고 있으며, 이러한 다양한 조직에서의 신호전달에 의해 감각신경의 탈분극에 의한 구심성 자극 전달이 이루어진다. 편역형광염색 연구에서 방광 감각신경 말단에서 P2X3, P2X2/3 수용체가 존재함이 밝혀져 있다 (25,26). P2X3와 P2X2/3 수용체는 등신경뿌리 신경절 (dorsal root ganglia; DRG)에 있는 소, 중구경 C형 신경섬유와 Aδ형 감각신경

에서 발견된다. 그리고 척수내의 뒤뿔 (dorsal horn)에 있는 감각신경에도 분포하고 있어 척수 수준에서의 신경전달 조절 기능에도 관여하는 것으로 알려져 있다 (27-29).

최근 배뇨근과활동성과 관련하여 구심성 감각신경의 국소 조절에 근육섬유모세포 (Myofibroblast)의 역할이 새롭게 주목 받고 있다. 방광내 근육섬유모세포는 다중 편역형 광염색에 의하면 콜린수용체와 퓨린수용체를 모두 가지고 있으며, 카르바콜 또는 ATP에 의해 근육섬유모세포 내로의 칼슘 유입이 발생하게 된다 (30). 이러한 연구 결과는 방광의 배뇨반사, 특히 배뇨근과활동성의 병태생리에서 퓨린수용체의 역할을 시사한다.

방광의 부피팽창 (volume distension)에 의해 유발되는 감각신경 자극 과정을 구심성 기계감각 전달 (afferent mechanosensory transduction)이라 하며, 정상적인 배뇨반사를 유발하는 주요 자극의 하나이다. 즉, 방광 부피팽창은 방광 감각신경을 활성화시켜 배뇨반사를 유발하게 된다. 이때 발생하는 감각신경의 활성화를 ATP가 매개하는 것으로 알려져 있다 (31-33). ATP의 분비 증가가 방광의 부피팽창 시 관찰되며, 외인성 ATP를 방광 내로 주입 시 방광근의 비역제성 수축이 발생하는데 이 수축은 ATP 농도 의존적이며 2',3'-O-(2,4,6-trinitrophenyl)-ATP (TNP-ATP) 투여에 의해 차단된다 (34). 또한 비특이적 퓨린길항제인 suramin이나 PPADS 등의 방광 내 주입은 방광출구폐색 백서에서 비역제성 방광근 수축을 감소시키며 정상 백서에서는 방광용적을 증가시키는 기능을 한다 (35).

P2X3 유전자 결핍 생쥐에서 방광내압측정 시 방광근 수축 빈도의 감소와 방광 용적의 증가를 보이는 반면 방광 근압은 그대로 유지되는데, 이는 P2X3가 주로 방광의 감각신경에 작용하여 방광 부피팽창에 의한 배뇨반사에 중요한 역할을 한다는 의미로 해석할 수 있다 (36). P2X3 유전자 결핍 생쥐에서 방광 부피팽창에 의한 ATP 분비 자체는 정상 수준이지만 퓨린수용체의 결핍에 의해 이와 같은 현상이 나타난다. 이러한 현상은 P2X3유전자 결핍 생쥐 뿐 아니라 P2X2, P2X2, P2X2/P2X3 결핍 생쥐에서 모두 관찰되는 것으로 보고되었다 (36,37).

ATP가 통증 감각에 관여한다는 사실은 오래 전부터 알려져 왔다 (38,39). 일반적으로 ATP는 통증감각을 강화시키는 작용을 한다. 예를 들면, ATP를 상박에 피하주사 시 그 자체로는 약한 통증 반응만을 보이지만, 조직에 주입된 ATP에 의해 자외선 조사 또는 capsaicin 피하주사 시에 나

타나는 통증 감각이 더 심해지는 현상이 나타난다.

방광 내 요로상피에서 국소적으로 분비되는 ATP는 점막 하에 뻗어 있는 신경 말단의 P2X3, P2X2/3 수용체에 작용하여 낮은 역치와 높은 역치의 구심성 신경섬유를 모두 활성화시킨다. 또한 구심성 신경섬유들의 여타 자극에 대한 감도를 상승시켜 구심성 신경전달을 증폭시키는 작용을 한다 (32,41). 간질성방광염 혹은 전립선비대증에 병발한 하부요로증상 환자에서 방광 부피팽창에 의한 ATP 분비가 정상에 비해 증가하는 것으로 보고되었다 (42,43). 또한 간질성방광염 환자에서 P2X3 수용체 발현 상승을 관찰할 수 있다 (44).

Pittsburgh 대학의 DeGroat 그룹에서는 시클로포스파미드 (cyclophosphamide) 유발 방광염 백서 모델에서 ATP 투여 시 방광 구심성 신경의 역치 전압 감소와 신경흥분 (afferent firing)의 증가, 그리고 활동전압 면적 (area of action potential)의 증가를 보고하였다 (45). 이 실험 결과는 간질성방광염 유사 동물실험 모델의 하나로 쓰이고 있는 시클로포스파미드 유발 방광염 백서 모델에서 P2X 수용체 자극은 방광 구심성 신경의 전체적인 신경 흥분도를 증가시키는 역할을 한다는 것을 시사한다.

결론

퓨린수용체는 배뇨반사에서 구심성, 원심성 신경 전달 과정에 모두 작용하고 있으며, 척수 수준에서의 신호 조절 과정에도 관여하고 있다. ATP에 의한 P2X1 수용체의 활성화는 방광근에서 관찰되는 NANC 수축의 주요 요소이다. 비록 사람의 정상 방광에서 P2X1수용체 자극에 의한 방광 수축은 극히 적은 부분에 불과하지만 방광근과활동성, 고령 등의 상태에서는 그 기여도가 증가하는 양상을 보인다. ATP에 의한 P2X3, P2X2/3수용체 활성화는 방광의 구심성 신경자극 전달의 조절에 관여하여 방광 부피팽창 및 통증에 관련된 감각의 역치를 감소시키는 작용을 한다. 퓨린수용체의 배뇨반사에 대한 원심성, 구심성 기능은 이 수용체의 조절을 통해 원심성 혹은 구심성 병인의 과민성 방광이나 간질성 방광 질환등에 대한 치료적 접근을 위한 새 지평을 여는데 도움을 줄 것으로 전망된다.

References

- 1) North RA. Molecular physiology of P2X receptors. *Physiol Rev.* 2002;82:1013-67
- 2) Nicke A, Baumert HG, Rettinger J, et al. P2X1 and P2X3 receptors form stable trimers: a novel structural motif of ligand-gated ion channels. *EMBO J.* 1998;17:3016-28
- 3) Sacco E, Pinto F, Bassi P. Emerging pharmacological targets in overactive bladder therapy: experimental and clinical evidences. *Int Urogynecol J Pelvic Floor Dysfunct.* 2008;19:583-98
- 4) Andersson KE, Persson K. The L-arginine/nitric oxide pathway and non-adrenergic, non-cholinergic relaxation of the lower urinary tract. *Gen Pharmacol.* 1993;24:833-9
- 5) Burnstock G, Dumsday B, Smythe A. Atropine resistant excitation of the urinary bladder: the possibility of transmission via nerves releasing a purine nucleotide. *Br J Pharmacol.* 1972;44:451-61
- 6) Dean DM, Downie JW. Contribution of adrenergic and "purinergic" neurotransmission to contraction in rabbit detrusor. *J Pharmacol Exp Ther.* 1978;207:431-45
- 7) Kasakov L, Burnstock G. The use of the slowly degradable analog, alpha, beta-methylene ATP, to produce desensitisation of the P2-purinoceptor: effect on non-adrenergic, non-cholinergic responses of the guinea-pig urinary bladder. *Eur J Pharmacol.* 1982;86:291-4
- 8) Hoyle CH, Burnstock G. Atropine-resistant excitatory junction potentials in rabbit bladder are blocked by alpha, beta-methylene ATP. *Eur J Pharmacol.* 1985;114:239-40
- 9) Brading AF, Williams JH. Contractile responses of smooth muscle strips from rat and guinea-pig urinary bladder to transmural stimulation: effects of atropine and alpha, beta-methylene ATP. *Br J Pharmacol.* 1990;99:493-8
- 10) King JA, Huddart H, Staff WG. Purinergic modulation of rat urinary bladder detrusor smooth muscle. *Gen Pharmacol.* 1997;29:597-604
- 11) Burnstock G, Cocks T, Crowe R, Kasakov L. Purinergic innervation of the guinea-pig urinary bladder. *Br J Pharmacol.* 1978;63:125-38
- 12) Hourani SM, Chown JA. The effects of some possible inhibitors of ectonucleotidases on the breakdown and pharmacological effects of ATP in the guinea-pig urinary bladder. *Gen Pharmacol.* 1989;20:413-6
- 13) Westfall TD, Kennedy C, Sneddon P. The ecto-ATPase

- inhibitor ARL 67156 enhances parasympathetic neurotransmission in the guinea-pig urinary bladder. *Eur J Pharmacol.* 1997;329:169-73
- 14) Fujii K. Evidence for adenosine triphosphate as an excitatory transmitter in guinea-pig, rabbit and pig urinary bladder. *J Physiol.* 1988;404:39-52
- 15) Inoue R, Brading AF. The properties of the ATP-induced depolarization and current in single cells isolated from the guinea-pig urinary bladder. *Br J Pharmacol.* 1990;100:619-25
- 16) Inoue R, Brading AF. Human, pig and guinea-pig bladder smooth muscle cells generate similar inward currents in response to purinoceptor activation. *Br J Pharmacol.* 1991;103:1840-1
- 17) Vial C, Evans RJ. P2X receptor expression in mouse urinary bladder and the requirement of P2X (1) receptors for functional P2X receptor responses in the mouse urinary bladder smooth muscle. *Br J Pharmacol.* 2000;131:1489-95
- 18) Hardy LA, Harvey IJ, Chambers P, Gillespie JJ. A putative alternatively spliced variant of the P2X (1) purinoreceptor in human bladder. *Exp Physiol.* 2000;85:461-3
- 19) O'Reilly BA, Kosaka AH, Chang TK, et al. A quantitative analysis of purinoceptor expression in human fetal and adult bladders. *J Urol.* 2001;165:1730-4
- 20) Sibley GN. A comparison of spontaneous and nerve-mediated activity in bladder muscle from man, pig and rabbit. *J Physiol.* 1984;354:431-43
- 21) Kinder RB, Mundy AR. Atropine blockade of nerve-mediated stimulation of the human detrusor. *Br J Urol.* 1985;57:418-21
- 22) O'Reilly BA, Kosaka AH, Knight GF, et al. P2X receptors and their role in female idiopathic detrusor instability. *J Urol.* 2002;167:157-64
- 23) Lai HH, Smith CP, Munoz A, Boone TB, Szigeti GP, Somogyi GT. Activation of cholinergic receptors blocks non-adrenergic non-cholinergic contractions in the rat urinary bladder. *Brain Res Bull.* 2008, in press
- 24) Yoshida M, Homma Y, Inadome A, et al. Age-related changes in cholinergic and purinergic neurotransmission in human isolated bladder smooth muscles. *Exp Gerontol.* 2001;36:99-109
- 25) Burnstock G. Purine-mediated signalling in pain and visceral perception. *Trends Pharmacol Sci.* 2001;22:182-8
- 26) Jarvis MF. Contributions of P2X3 homomeric and heteromeric channels to acute and chronic pain. *Expert Opin Ther Targets.* 2003;7:513-22
- 27) Vulchanova L, Riedl MS, Shuster SJ, et al. Immunohistochemical study of the P2X2 and P2X3 receptor subunits in rat and monkey sensory neurons and their central terminals. *Neuropharmacology.* 1997;36:1229-42
- 28) Bradbury EJ, Burnstock G, McMahon SB. The expression of P2X3 purinoreceptors in sensory neurons: effects of axotomy and glial-derived neurotrophic factor. *Mol Cell Neurosci.* 1998;12:256-68
- 29) Dunn PM, Zhong Y, Burnstock G. P2X receptors in peripheral neurons. *Prog Neurobiol.* 2001;65:107-34
- 30) Neuhaus J, Scholler U, Freick K, et al. [Myofibroblasts and afferent signalling in the urinary bladder. A concept]. *Urologe A.* 2008;47:1085-6, 8-90
- 31) Ferguson DR, Kennedy I, Burton TJ. ATP is released from rabbit urinary bladder epithelial cells by hydrostatic pressure changes--a possible sensory mechanism? *J Physiol.* 1997;505(Pt 2):503-11
- 32) Vlaskovska M, Kasakov L, Rong W, et al. P2X3 knock-out mice reveal a major sensory role for urothelially released ATP. *J Neurosci.* 2001;21:5670-7
- 33) Wang EC, Lee JM, Ruiz WG, et al. ATP and purinergic receptor-dependent membrane traffic in bladder umbrella cells. *J Clin Invest.* 2005;115:2412-22
- 34) Pandita RK, Andersson KE. Intravesical adenosine triphosphate stimulates the micturition reflex in awake, freely moving rats. *J Urol.* 2002;168:1230-4
- 35) Velasco C, Guarneri L, Leonardi A, Testa R. Effects of intravenous and intravesical administration of suramin, terazosin and BMY 7378 on bladder instability in conscious rats with bladder outlet obstruction. *BJU Int.* 2003; 92:131-6
- 36) Cockayne DA, Hamilton SG, Zhu QM, et al. Urinary bladder hyporeflexia and reduced pain-related behaviour in P2X3-deficient mice. *Nature.* 2000;407:1011-5
- 37) Cockayne DA, Dunn PM, Zhong Y, et al. P2X2 knock-out mice and P2X2/P2X3 double knockout mice reveal a role for the P2X2 receptor subunit in mediating multiple sensory effects of ATP. *J Physiol.* 2005;567:621-39
- 38) Collier HO, James GW, Schneider C. Antagonism by aspirin and fenamates of bronchoconstriction and nociception induced by adenosine-5'-triphosphate. *Nature.* 1966;212:411-2
- 39) Bleehen T, Hobbiger F, Keele CA. Identification of algogenic substances in human erythrocytes. *J Physiol.* 1976;262:131-49

- 40) Hamilton SG, Warburton J, Bhattacharjee A, Ward J, McMahon SB. ATP in human skin elicits a dose-related pain response which is potentiated under conditions of hyperalgesia. *Brain*. 2000;123(Pt 6):1238-46
 - 41) Rong W, Spyer KM, Burnstock G. Activation and sensitisation of low and high threshold afferent fibres mediated by P2X receptors in the mouse urinary bladder. *J Physiol*. 2002;541:591-600
 - 42) Sun Y, MaLossi J, Jacobs SC, Chai TC. Effect of doxazosin on stretch-activated adenosine triphosphate release in bladder urothelial cells from patients with benign prostatic hyperplasia. *Urology*. 2002;60:351-6
 - 43) Sun Y, Keay S, De Deyne PG, Chai TC. Augmented stretch activated adenosine triphosphate release from bladder uroepithelial cells in patients with interstitial cystitis. *J Urol*. 2001;166:1951-6
 - 44) Sun Y, Chai TC. Up-regulation of P2X3 receptor during stretch of bladder urothelial cells from patients with interstitial cystitis. *J Urol*. 2004;171:448-52
 - 45) Yu Y, de Groat WC. Sensitization of pelvic afferent nerves in the in vitro rat urinary bladder-pelvic nerve preparation by purinergic agonists and cyclophosphamide pretreatment. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2008;294:F1146-56
-