

안지오텐신 II의 적출심근 및 대동맥 평활근에 대한 작용기전

서울대학교 의과대학 생리학교실

김 규 찬 · 김 기 환 · 엄 용 의

= Abstract =

Effects of Angiotensin II on Isolated Cardiac Muscle and Aortic Strips in Rabbit

Kyuchan Kim, Ki Whan Kim and Yung E Earm

Department of Physiology, Seoul National University, College of Medicine

Contractile responses of myocardium and vascular smooth muscle to angiotensin II were studied in isolated rabbit papillary muscles and aortic helical strips, with respect to the sensitivity and the mechanism of action.

All experiments were performed in HCO₃⁻-buffered Tyrode solution which was aerated with 3% CO₂-97% O₂ and kept pH 7.35 at 35°C. Action potentials were measured by conventional microelectrode technique in the papillary muscles. Helical strips of vascular smooth muscle were prepared from the descending thoracic aorta of the rabbit.

Angiotensin II elicited a positive inotropic effect in doses from 10⁻⁸ to 10⁻⁶ M, and this effect was dose-dependent and characterized by a symmetrical increase of maximum dP/dt during contraction and relaxation phase. Slow responses (or slow action potentials) were induced by A. II (10⁻⁶ M) in the papillary muscle hypopolarized by 27mM K⁺. These A. II-induced slow action potentials were eliminated by verapamil (2 mg/l), but not affected by propranolol (10⁻⁵ M).

In aortic helical strips, contractile force was increased dose-dependently in the range of 10⁻¹⁰~10⁻⁷ M A. II. ED₅₀ in aorta was 3×10⁻⁹ M A. II, whereas that in papillary muscle was 2.5×10⁻⁷ M A. II. A. II contracted vascular smooth muscle in depolarizing concentration of K⁺ (100 mM K⁺), and also produced a sustained contraction even in the presence of verapamil and regitine.

The results of this experiment suggest that the primarily important physiological role of A. II is the action on the blood vessel, and the positive inotropic effect of A. II in papillary muscle results from the increase of slow inward Ca⁺⁺ current, and that A. II-induced contraction of aorta is independent of transmembrane potential and associated with promoting both transmembrane Ca⁺⁺-influx and the mobilization of cellular Ca⁺⁺.

서 론

강력한 평활근 수축제로 알려진 Angiotensin II (A. II)는 혈관축소작용은 물론 심근에도 수축력 강화작용

* 금강병원 소아과(원재)

이 있음이 알려져 왔고(Bonnardeaux et al., 1974 ; Peach, 1977) 이것은 아마도 심근흥분시 A. II투여로 Ca⁺⁺투과성이 증가된 결과라는 몇몇 보고가 있다(Bonnardeaux and Regoli, 1974 ; Freer et al., 1976).

심근의 활동전압은 세포막에 존재하는 두가지 서로 다른 이온통로, 즉 fast channel과 slow channel을

통하여 Na^+ 과 Ca^{++} 이 세포내로 유입되어 발생한다 (Trautwein, 1973). Fast channel을 통하여 급속히 유입되는 Na^+ 이 이루는 급속내향전류(fast inward current, I_{Na})는 급속한 탈분극을 일으키고(Weidmann, 1955) 이 통로는 tetrodotoxin(TTX)에 의해서나 세포밖의 K^+ 농도를 높여 막전압을 저분극시킴으로써 차단되며(Pappano, 1970), slow channel을 통하여 비교적 완만하게 유입되는 Ca^{++} 은, 부분적으로 Na^+ 이 관여하기는 하지만 완만내향전류(slow inward current, I_{Si} , Calcium current)의 주류를 이루고(Reuter, 1973; Beeler and Reuter 1977), 이 통로는 전자와는 달리 TTX로 차단되지 않으나 Mn^{++} , verapamil, D-600등에 의하여 선택적으로 차단된다(Fleckenstein, 1977).

심근 활동전압의 고원기(plateau phase)는 이온들의 내향전류와 외향전류의 복잡한 균형으로 유지되는데(Beeler and Reuter, 1977; Reuter, 1979; Vassalle, 1979), Ca^{++} 이 주체가 되는 I_{Si} 가 이 고원기를 유지하는데 중요하며 또 Ca^{++} 이 흥분-수축 연결(excitation-contraction coupling)에 가장 기본적인 역할을 하기 때문에, I_{Si} 의 중요성이 인식되어 왔다(Bassingthwaite and Reuter, 1972; Langer, 1973). I_{Si} 에 의한 고원기는 I_{Si} 의 비활성화와 완만외향전류(slow outward potassium current, i_{s})의 활성화에 의하여 재분극이 시작됨으로써 끝난다(Noble and Tsien, 1972; Beeler and Reuter, 1977; Noble, 1979). 이러한 사실들은 막전압 고정법(voltage clamp technique)의 활용으로 막전압을 $-50 \sim -40 \text{ mV}$ 로 고정하여 급속내향전류를 비활성화시켜 I_{Si} 를 분리할 수 있게 됨으로써 밝혀진 중요한 사실들이다.

이 논문은 A. II가 혈관평활근과 심근의 수축력을 모두 증가시킨다면 그 감도(sensitivity)에 있어서 어느 정도 차이가 있으며 그 작용기전은 어떻게 다른가를 밝혀볼 목적으로 토끼의 유두근과 대동맥 평활근에 대한 A. II의 작용기전을 분석한 것이다.

실 험 방 법

체중 1.5 kg 내외되는 토끼를 암수 구별없이 사용하였고 우심실 유두근과 흉부 대동맥을 실험재료로 하였다. 토끼의 흥분으로 초래될 혈중 catecholamine의 농도를 최소한도로 줄이기 위하여 후두부를 강타한 후 즉시 총경동맥을 절단하여 실험시켰다. 개흉하여 심장과 대동맥을 적출한 뒤 실온에서 100% O_2 로 포화된 tris 완충 Tyrode 용액(NaCl 158, KCl 4.0, CaCl_2

2.0, MgCl_2 1.0, Glucose 5.5, Tris 10 mM, pH 7.30 ~ 7.35)이 들어있는 준비용기 내에서 필요한 준비작업을 행하였고, 실제실험은 35°C에서 3% CO_2 -97% O_2 의 혼합기체로 평형을 이룬 HCO_3^- -완충 Tyrode 용액(NaCl 148, KCl 4.0, CaCl_2 2.0, MgCl_2 1.0, NaHCO_3 13, NaH_2PO_4 0.42, Glucose 5.5 mM, pH 7.30 ~ 7.35)내에서 시행하였다.

1) 적출 유두근

실온에서 100% O_2 로 포화된 tris-완충용액이 들어있는 준비용기 속에서 우심실을 절개하고 무게 1~2 mg, 길이 5 mm 정도되는 유두근을 체내 길이대로 적출, 근육고정기에 고정하여 실온에서 1시간 가량 회복시켰다. 다음 35°C의 HCO_3^- -완충 Tyrode 용액을 3% CO_2 -97% O_2 로 포화시킨 수직형의 실험용기(용량 100 ml)에 옮겨 30분 정도 회복시킨 후 문턱자극의 2배 강도의 전기자극을 가하면서 단계적으로 근육길이를 늘려 최적길이를 구하고 다시 이 상태에서 30분간 회복시킨 뒤 자극빈도를 30/min(0.5 Hz)로 하면서 A. II투여 전후의 등장성 수축(isometric contraction)과 장력발생속도(dP/dt)를 기록하여 그 변화를 관찰하였다.

활동전압과 수축곡선을 동시에 관찰하기 위하여 우심실의 유두근을 등장성 근수축변환기(Collins 제)에 연결된 근육고정기에 체내길이대로 적출 고정된 뒤 앞의 방법대로 시행하였다. 그러나 이 목적의 실험용기(용량 3 ml)는 수평형으로 5~10 ml/min의 속도로 관류시키면서 최적길이를 결정 한 뒤 실험을 시작하였다. 활동전압은 끝직경이 $0.5 \mu\text{m}$ 이하고 3 M KCl 을 채워 전극저항이 20 M Ω 정도되는 유리미세전극을 심근 세포내에 삽입하여 기록하였다. 입력 임피던스가 $10^{12} \Omega$ 인 미세전극 전치증폭기를 통하여 나온 활동전압을 오실로스코프(Advance OS 2200)와 생리기록기(Device 제)에 기록하였으며 자극기(Grass S4)를 사용하여 실험용기 밑부분에 장치된 매우 작은 백금전극을 통하여 유두근을 직접 자극하였다(그림 1). K^+ -저분극을 일으키기 위하여 정상 Tyrode 용액중 Na 23 mM을 줄이고 대신 K 를 넣어 27 mM K^+ 을 포함하는 용액을 만들어 사용하였다(27 mM K -Tyrode 용액).

2) 적출 대동맥 절편

심장적출과 동시에 떼어낸 흉부대동맥은 실온에서 100% O_2 로 포화된 Tris-완충 Tyrode 용액이 들어있는 준비용기 내에서 혈관주위조직을 깨끗이 박리한 뒤 혈관 절제용 유리 끝에 한쪽 끝을 고정시키고 돌리면서 45°

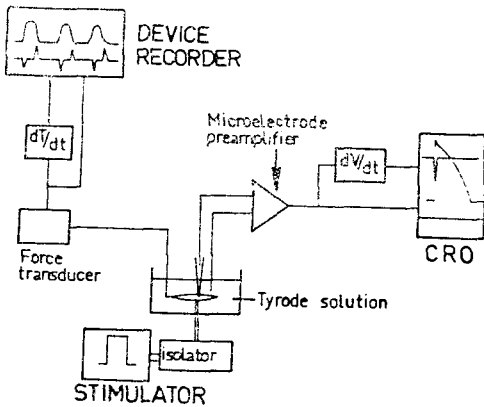


Fig. 1. Schematic diagram of experimental system. Transmembrane potential and isometric contraction with its maximum rate of tension development (dP/dt) were recorded on oscilloscope and physiograph in rabbit papillary muscle.

방향으로 잘라 나선형의 긴 절편을 만들었다(helical strip). 길이 10~12 mm, 나비 1~2 mm 되게 다듬어 근육 고정기에 양쪽 끝을 이완된 상태로 고정된 뒤 실온에서 1시간 가량 충분한 양의 100% O_2 를 공급하면서 회복시켰다.

35°C에서 3% CO_2 -97% O_2 혼합기체로 포화된 HCO_3^- 완충 Tyrode 용액이 들어있는 수직형 실험용기(용량 100 ml)에 옮겨, 근육고정기와 근수축변환기(Grass FT-03)를 연결시키고 생리기록기(Device 제)에 연결하여 등장성 수축곡선을 기록할 수 있도록 장치하였다. 실험용기 내에 1시간 이상 충분히 이완된 상태로 두었고 20분마다 새로운 용액으로 갈아주면서 회복을 촉진시켰으며, 0.5~1.0 g의 피동장력(passive tension)을 걸어주어 최대장력을 발생할 수 있도록 하였고(Furchgott and Bhadrakom, 1953), K-경축(K-contracture)을 일으키기 위해서는 K 농도를 100 mM로 높이고 Na 농도를 96 mM 줄여서 등장성으로 만든 용액을 사용하였다(100 mM K-Tyrode 용액).

실험에 사용된 약물은 다음과 같다.

- Angiotensin II (Hypertensin, CIBA)
- Verapamil (Isoptin, Knoll AG)
- Phentolamine (Regitin, CIBA)
- DL-Propranolol (Sigma)

실험성적

1) 안지오펜신 II의 심근 수축력 강화

심근 수축력이 A. II의 농도증가에 따라 증가하고

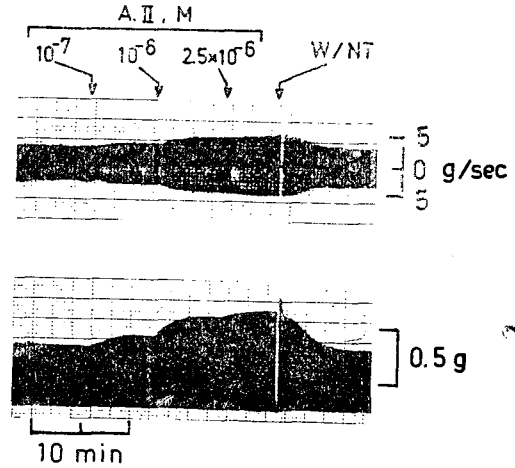


Fig. 2. Response of isolated rabbit papillary muscle to angiotensin II (A. II). The muscle was stimulated with frequency of 0.5 Hz and A. II was administered to bath cumulatively.

Upper panel: recording of the maximum rate of tension development (dP/dt).

Lower panel: recording of isometric tension W/NT: washout with normal Tyrode solution

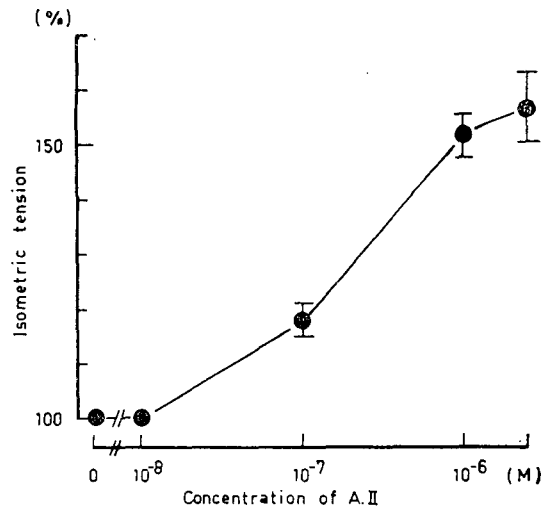


Fig. 3. Dose-response curve for angiotensin II (A. II) in isolated papillary muscle. Ordinate: percent change from the control isometric tension. Abscissa: dose of A. II in molarity. ED_{50} is at the concentration of 2.5×10^{-7} M A. II. Each point represents the average \pm SEM from 6 experiments.

있음을 그림 2에 나타내었다. 동시에 기록된 장력발생 속도(dP/dt) 역시 A. II농도의 증가에 따라 수축기와 이완기에 대칭적으로 증가되고 있음을 나타내고 있다. 이와같은 현상을 그림 3에 수치로 나타내었는데

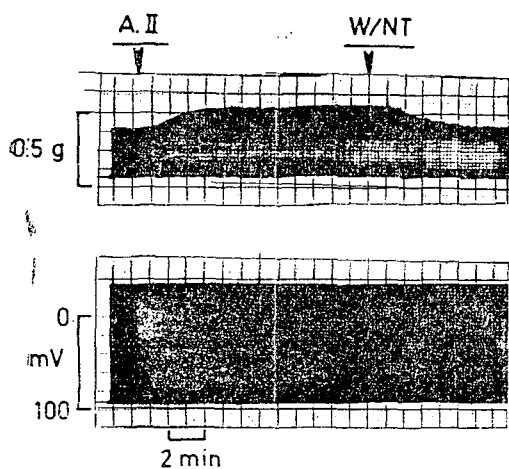


Fig. 4. Slow tracings of responses of isometric tension and action potential of a normal papillary muscle (wet weight 1.2 mg) to angiotensin II (A. II) 10^{-6} M.

Upper panel: recording of isometric tension.
Lower panel: recording of transmembrane action potential.

Resting membrane potential, overshoot and amplitude of action potential were not altered with the administration of A. II.

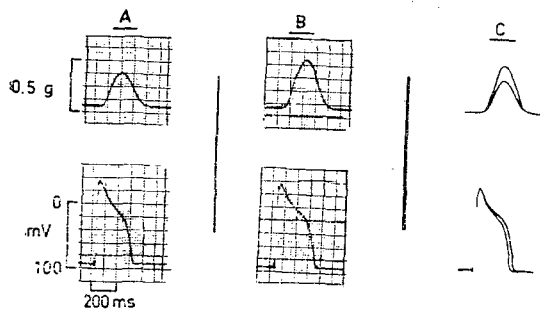


Fig. 5. Rapid tracings of responses of isometric tension and action potential to angiotensin II (A. II) 10^{-6} M in an isolated rabbit papillary muscle.

A: control recording in prior to the addition of A. II.

B: experimental recording 12 min after the addition of A. II.

C: superimposed tracings of A and B.

The prolongation of action potential duration is obviously observed when the isometric tension is increased by A. II.

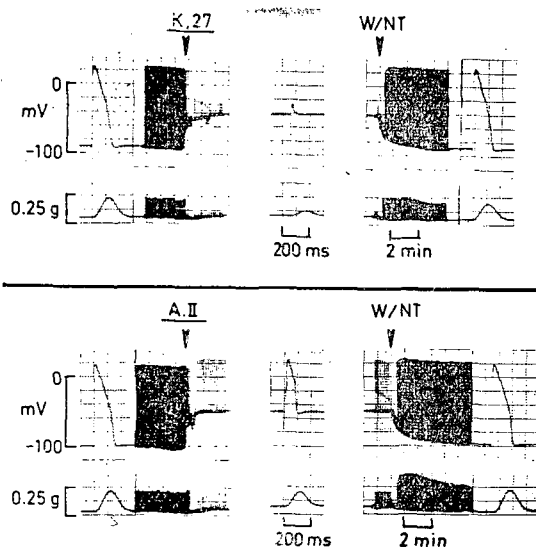


Fig. 6. Induction of contractile responses by angiotensin II (A. II) in a rabbit papillary muscle blocked by elevated $[K^+]$.

Upper panel: elevation of the K^+ concentration to 27 mM blocked excitability despite slow and intense stimulation. (from 5 V, 0.5 Hz to 20V, 0.1 Hz).

Lower panel: response to A. II (10^{-6} M) in the 27 mM K-Tyrode solution. Slow responses were induced by A. II.

수축력의 증가현상은 A. II 농도 10^{-8} M까지는 보이지 않았고, 10^{-7} M에서 대조치에 비하여 20%, 10^{-6} M에서 50%, 2.5×10^{-6} M(최대)에서 60% 정도로 증가되었고 대조치보다 30% 증가된 수축력이 나타나는 농도 (50% 유효량, ED_{50})는 2.5×10^{-7} M이었다.

2) A. II의 심근 활동전압에 미치는 효과

위의 실험에서 얻은 A. II의 뚜렷한 심근 수축력강화의 작용기전을 전기생리학적으로 밝히기 위하여 거의 최대효과를 보이는 A. II 농도 10^{-6} M에서의 활동전압의 변화를 그림 4에 나타내었다. A. II투여로 장력증가 현상은 곧 나타나기 시작하여 약 10분 후 항정상태에 도달하고 있으며 정상 Tyrode 용액으로 바꿔주면 곧 원상태로 회복되고 있다. 이때 동시에 기록한 활동전압에 있어서 막전압과 지나치기 전압 그리고 전체 활동전압의 크기는 거의 변화가 없음을 잘 보여주고 있다. 그러나 활동전압기간(action potential duration)이 수축력 증가와 함께 증가하고 있음을 그림 5에 나타내었다. 즉 대조군의 막전압 -92 mV, 지나치기 전압 36 mV, 활동전압 크기 128 mV이었고, A. II 10^{-6} M

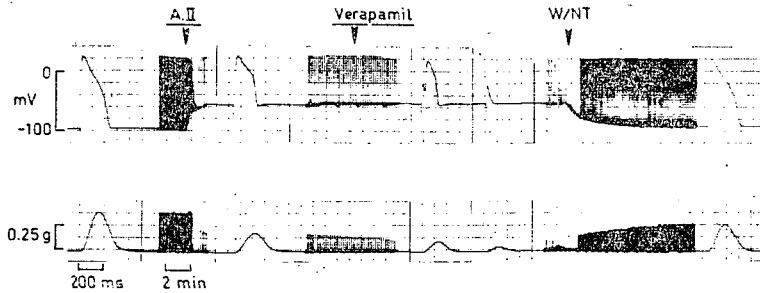


Fig. 7. Inhibition of angiotensin II-induced slow responses by Ca-antagonist, verapamil. The slow responses induced by A. II (10^{-6} M) were eliminated gradually with the administration of verapamil (2 mg/l).

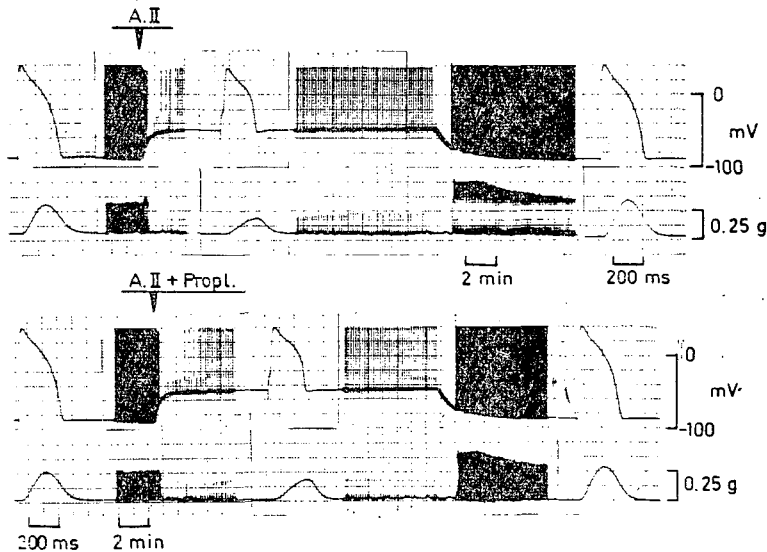


Fig. 8. The effect of β -receptor blocker, propranolol (10^{-5} M) on angiotensin II-induced slow action potentials. The slow responses induced by A. II (10^{-6} M) were not affected by propranolol.

투여 12분 후에 기록한 활동전압의 이 세가지 변수는 모두 같았다. 그러나 50% 재분극 및 90% 재분극 기간은 각각 220 ms에서 250 ms, 280 ms에서 320 ms로 명백한 증가 현상을 보여주고 있다.

3) A. II의 완만내향전류에 미치는 영향

심근의 흥분-수축 연결 초기과정에 중요한 역할을 하는 것으로 알려진 완만내향전류에 대한 A. II의 영향을 그림 6, 7, 8에서 보여주고 있다. 그림 6의 상단에 보인 것처럼 유두근은 막전압이 27 mM K-Tyrode 용액으로 $-45 \sim -40$ mV로 저분극되면 곧 0.5 Hz, 5 V의 전기자극에 반응을 못하게 되고 0.1 Hz, 20 V로 자극조건을 바꾸어도 활동전압은 나타나지 않으나 정상

Tyrode 용액으로 바꾸어 주고 자극을 다시 0.5 Hz, 5 V로 하면 곧 반응을 하고 있다. 그러나 하단에 보인 것처럼 27 mM K-Tyrode 용액에 A. II 10^{-6} M을 첨가하고 같은 조건의 전기자극을 줄 경우에는 느린 활동전압(slow action potential)이 잘 나타나고 있다. 이러한 현상은 A. II가 완만내향전류를 증가시키는 작용이 있음을 암시한다.

A. II에 의하여 생겨난 느린 활동전압이 Ca^{++} 유입 차단제인 verapamil(Kohlhardt et al., 1972)에 의하여 억제된다는 것을 그림 7에 나타내었다. 즉 자극조건이 0.1 Hz, 20 V이고, A. II 농도가 10^{-6} M인 27 mM K-Tyrode 용액내에서 잘 나타난 느린 활동전압이 verapamil 2 mg/l 투여로 서서히 작아지다가 4분 후

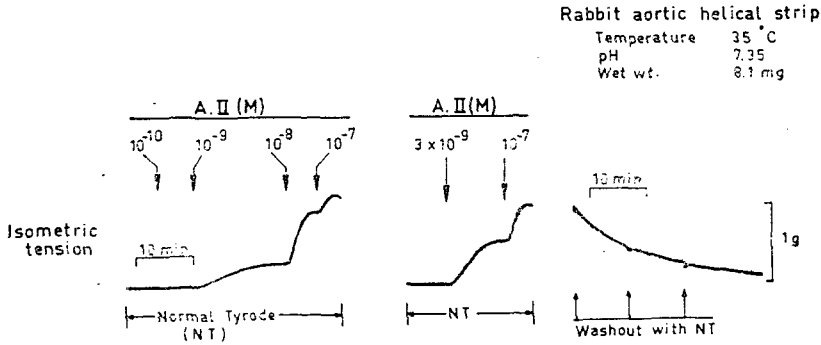


Fig. 9. Dose-dependent contractile responses to angiotensin II. A. II was administered cumulatively to bathing Tyrode solution. Wet weight of helical strip was 8.1 mg.

완전히 소실되고 있으며 정상 Tyrode 용액으로 바뀌면 모든 반응이 회복되고 있다. 이와 같은 실험결과는 느린 활동전압에 Ca 이온전류가 매우 중요한 역할을 하고 있으며 A. II가 Ca 이온전류를 증가시킴으로써 느린 활동전압을 유발한다는 것을 거의 확실히 밝혀주고 있다.

A. II의 Ca 이온전류에 대한 위와 같은 영향이 β -수용체를 매개로 하여 생겨나는지를 밝히기 위하여 β -수용체 차단제인 propranolol을 사용하여 그 효과를 비교관찰한 것이 그림 8이다. A. II 10^{-6} M과 propranolol 10^{-6} M을 같이 투여하여도 A. II만 단독투여하였을 때와 비교하여 큰 변화가 없음을 명백히 알 수 있다. 위와 같은 실험결과로 미루어 A. II의 완전내향전류인 Ca 이온전류 증가기전은 β -수용체와 별개로 심근 세포막에 존재하는 A. II-수용체를 통하여 일어난 것으로 해석된다.

4) A. II와 혈관 평활근 수축

토끼 흉부대동맥 나선형 절편에서 A. II에 의한 수축반응의 변화를 그림 9에 보인다. A. II 농도 10^{-10} M에서는 거의 수축반응이 없으나 농도증가에 따라 수축의 크기도 증가하였다.

그림 10은 A. II 10^{-7} M에서의 수축크기를 최대치(100%)로 하고 각 농도에서의 크기를 백분율로 표시한 것이다. 최대치의 50%에 이르는 농도(ED_{50})는 3×10^{-9} M 이었고, 낮은 농도에서는 상당기간 지속성 수축을 유지하였으나 높은 농도에서는 최고치에 도달하였다가 계속 유지하지 못하고 서서히 이완되는 현상을 보였다. A. II의 대동맥 평활근에 대한 ED_{50} 가 3×10^{-9} M 인데 비하여 유두근에 대하여는 2.5×10^{-7} M 인

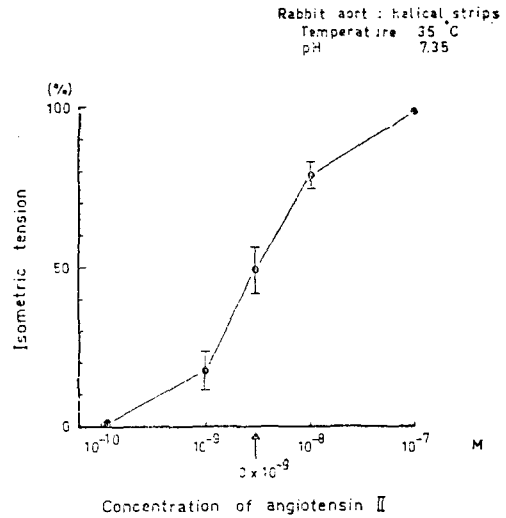


Fig. 10. Dose-dependency of A. II-induced contraction in rabbit aorta. Developed tension was expressed as a percentage of maximum response induced at the concentration of 10^{-7} M A. II. Each point shows the mean \pm SEM for pooled data from 15 preparations. ED_{50} is at the concentration of 3×10^{-9} M A. II.

사실은 A. II에 대한 감도가 혈관평활근 쪽이 100배 정도 크다는 것을 보여주고 있다.

5) A. II의 혈관평활근 수축기전

A. II의 혈관평활근 수축작용이 막전압, Ca 이온유입 및 α -수용체와 어떤 관계가 있는가를 보여주는 것이 그림 11이다.

100 mM K Tyrode 용액으로 강력한 K-경축을 보이는

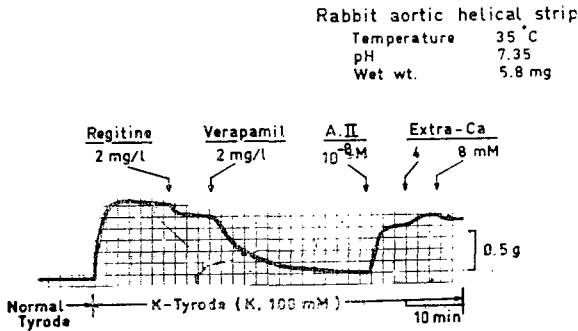


Fig. 11. Contractile responses to A. II, unaffected by verapamil and α -blocker, Regitine. Wet weight of helical strip was 5.8 mg.

데 이것은 막전압의 탈분극으로 Ca 이온유입이 촉진되어서 일어난 것이다. α -차단제인 Regitine 투여로 약간의 장력감소가 일어나는 것은 K-경축에 있어서 일부나마 α -수용체를 통한 작용이 있음을 나타낸다고 해석되며, 세포막은 탈분극되어 있으나 verapamil에 의하여 장력이 완전히 원상으로 회복되고 있다. 이러한 조건, 즉 막전압은 완전히 탈분극되어 있고, Ca 이온유입이 차단되어 있으며 α -수용체 역시 차단되어 있는 조건에서 A. II 10^{-8} M 은 여전히 강력한 수축반응을 일으키고 Ca 이온의 추가투여로 수축증가현상을 보인다. 이러한 실험 사실은 A. II가 혈관평활근에 직접 작용하여 Ca 이온유입을 촉진할 뿐만 아니라 근장내의 Ca 이온을 유리시키는 기전을 통하여 수축을 유발하는 것으로 해석된다.

고 찰

안지오텐신 II (A. II)가 혈관 평활근은 물론 심근 수축력도 증가시킨다는 사실은 1940년대부터 알려져 왔다(Bonnardeaux and Regoli, 1974). 실험동물로는 고양이(Dempsey et al., 1971), 토끼(Bonnardeaux and Regoli, 1974; Freer et al., 1976), guinea pig(Freer et al., 1976)등의 심장을 사용하여 심근수축력이 A. II에 의하여 증가됨이 보고되었으며 동물의 종류 및 심장 부위에 따라 A. II에 대한 감도가 다르다는 사실도 보고되고 있다. 토끼 전체 심장을 이용한 관류실험(Langendorff technique)에서 A. II 10^{-9} ~ 10^{-6} M 범위에서 수축력 증가현상이 나타났고, 이러한 현상은 정상 토끼나, 실험전 reserpine 투여로 교감신경 말단에서 catecholamine을 고갈시킨 토끼에서도 같이 나타났다(Bonnardeaux and Regoli, 1974). 토끼 유두근

을 이용한 본 실험결과를 보면 10^{-6} M 이상에서 효과가 나타나기 시작하여 10^{-6} M 정도에서 수축력 증가 정도가 최대값을 보였고, 장력발생속도도 A. II 농도증가에 따라 수축기와 이완기에 대칭적으로 증가됨을 보여 주었는데 이것은 전체 심장의 결과와 대동소이함을 나타내는 것으로 해석된다.

A. II의 심근수축력 증가효과와 함께 활동전압에 나타난 뚜렷한 변화는 활동전압기간(action potential duration)의 연장이다.

심근활동전압의 기간을 결정하는 중요인자로는 완만내향전류(slow inward current, I_{si})와 완만외향전류(slow outward potassium current, i_x)가 있는데 이 두 전류는 서로 상반되는 효과를 나타내는 바 I_{si} 가 증가하면 기간이 길어지나 i_x 가 일찍 활성화되면 오히려 단축되므로 양자간의 균형에 의하여 활동전압의 기간이 결정된다. 막전압 고정법이 창안되어 활동전압에 관여하는 이온전류(ionic current)의 성상에 관하여 많은 발전이 있었으며(Hodgkin, Huxley and Katz, 1952), 특히 심근에서 막전압을 -50 mV에 고정하면 Na^+ 의 급속내향전류, I_{Na} 이 완전히 비활성화 되기 때문에 세포밖 K^+ 농도를 올려서 막전압을 고정시키는 방법(Pappano, 1970)도 I_{si} 의 변화를 관찰하는데 적당한 방법으로 평가되고 있다(Schneider and Sperelakis, 1975; Inui and Imamura, 1976; Earm, 1979).

본 실험에서 27 mM K-Tyrode 용액을 쓰면 막전압이 -40 ~ -45 mV로 고정되었으며 이 정도의 막전압 범위에서는 I_{Na} 가 완전히 비활성화된다(Reuter, 1973). 27 mM K-Tyrode 용액으로 I_{Na} 를 완전 비활성시킨 상태에서 생긴 느린 활동전압을 흔히 slow response 또는 Ca-action potential이라고 부른다(Reuter, 1979). 완만내향전류, I_{si} 는 활동전압의 고원기(plateau phase)를 유지하며 Ca^{++} 이 주체를 이루고(Reuter, 1967, 1973; Trautwein, 1973) 이것에 의하여 심근수축이 시작되는데, 이러한 현상은 I_{si} 로서 일단 세포내로 유입된 Ca^{++} 이 세포속 Ca^{++} 저장고 특히 근장근물(sarcoplasmic reticulum, SR)에 작용하여 근육수축에 필요한 충분한 양의 Ca^{++} 을 유리시킴으로써 일어난다(Rich and Langer, 1975; Fabito and Fabito, 1977).

본 실험결과에 나타난 A. II의 활동전압기간에 대한 효과(prolongation of action potential duration)가 I_{si} 를 증가시켜서 나타났는지를 확인하기 위하여 27 mM K-Tyrode 용액으로 I_{Na} 를 비활성화시킨 상태에서 A. II를 투여하여 보니 slow response가 나타났고 더군다나 이것이 Ca^{++} channel 차단제인 verapamil에

의하여 크기가 점차 작아지다가 완전히 없어지는 것으로 보아(그림 6, 7), 확실히 A. II는 Isi를 증가시키는 작용이 있는 것으로 해석된다. 또한 이러한 작용이 교감신경을 통한 간접 작용으로 나타나는 것이 아니라 심근에 대한 직접 작용이라는 것은 β -수용체 차단제 투여에 의하여 A. II의 작용이 전혀 영향을 받지 않는다는 사실로 증명되며(그림 8), 실험전 catecholamine을 고갈시킨 동물의 심장 전체관류실험에서도 같은 결과를 얻은 보고가 있다(Dempsey et al., 1971; Bonnardeaux and Regoil 1974). 그러나 이러한 실험 결과를 뒷받침하기 위해서는 A. II에 의한 Isi의 변화를 실제로 측정하여야 할 것이며 가능한 i_x 에 대한 영향 또한 더 연구되어야 할 과제이다.

혈관평활근에 대한 A. II의 작용은 심근인 유두근에 비하여 훨씬 더 예민하게 수축반응을 보여서 10^{-10} ~ 10^{-7} M 범위에서 효과를 나타내었고(그림 9, 10) ED_{50} 는 심근에서 2.5×10^{-7} M, 대동맥에서 3×10^{-9} M로 100배 정도의 차이를 보이고 있다. 이러한 사실은 정상 생리적 상태하에서 A. II의 혈관에 대한 수축작용이 일차적으로 중요한 조절기능일 것으로 해석되며 조직에 따른 이러한 감도의 차이는 앞으로 더 규명되어야 할 문제로 생각된다.

혈관평활근의 수축기전은 심근과는 달리 활동전압이 수축으로 연결되는 흥분-수축연결(excitation-contraction coupling) 과정이 없더라도, 약물에 의하여 근장내에 활성 Ca^{++} (activator Ca^{++})이 증가되어 수축이 일어날 수도 있다(pharmacomechanical coupling; Bohr, 1973; Kim et al., 1979). 본 실험에서도 등장성 100 mM K-Tyrode 용액으로 막전압을 완전히 탈분극시킨 상태에서 10^{-8} M A. II를 투여하여 뚜렷한 수축반응을 일으키는 것으로 보아, A. II가 토끼 대동맥에서 막전압의 변화 없이도 근장내로 활성 Ca^{++} 을 동원시키는 작용을 가지고 있음을 알 수 있다.

결 론

적출한 토끼의 우심실 유두근 및 흉부 대동맥의 나선형 절편을 사용하여 안지오텐신 II의 심근 및 혈관평활근의 수축성에 미치는 영향을 비교 관찰하고 그 작용기전을 연구하였다.

35°C pH 7.35에서 3% CO_2 -97% O_2 혼합가스로 포화시킨 HCO_3^- -완충 Tyrode 용액에서 적출한 유두근의 등장성 수축과 활동전압을 동시에 기록하면서 A. II 투여 전후의 변화를 관찰하였고, 완만 내향전류에

대한 효과를 관찰하기 위하여 27 mM K-Tyrode 용액으로 막전압을 -40~-45 mV에 고정시키고 A. II에 의하여 느린 활동전압(Ca^{++} action potential)이 나타나는 것을 확인하였고 이것에 대한 verapamil과 propranolol의 효과를 관찰하였다.

마찬가지로 대동맥의 나선형 절편도 같은 조건에서 등장성 수축을 기록하면서 A. II의 작용기전을 알아내기 위하여 K-경축이나 그의 몇가지 조건하에서의 변화양상을 분석하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1) 심근 수축력은 A. II의 농도증가(10^{-8} ~ 10^{-6} M)에 따라 증가되었으며, 장력발생속도도 수축기와 이완기에 대칭적으로 증가되었다.

2) 심근 활동전압은 A. II에 의하여 막전압, 지나치기전압 및 활동전압의 크기에 있어서 변화가 없었으나 활동전압기간은 뚜렷한 연장이 나타났다.

3) A. II는 27 mM K^+ 로 저분극시킨 유두근에서 느린 활동전압을 유발하였으며 이것은 verapamil에 의하여 크기가 감소하다가 소실되었으나 propranolol에 의하여는 변화가 없었다.

4) 대동맥평활근은 A. II 농도증가(10^{-10} ~ 10^{-7} M)에 따라 수축이 커졌으며, ED_{50} 는 심근에서 2.5×10^{-7} M이었고 대동맥에서는 3×10^{-9} M로 혈관쪽이 100배 정도 예민하게 반응하였다.

5) 대동맥평활근에서 막전압을 완전히 탈분극시키고 α -차단제와 Ca-길항제를 전처치한 조건에서도 A. II는 뚜렷한 수축을 일으켰고 Ca^{++} 추가투여에 의하여 수축의 크기도 증가되었다.

이상의 실험결과들로 미루어 A. II의 혈관에 대한 수축작용이 일차적인 중요작용으로 해석되고, 심근의 수축력강화 기전은 완만내향전류를 증가시키는 것으로 보이며, 혈관평활근에 대해서는 A. II가 막전압과는 무관하게 근장내에 활성 Ca^{++} 을 동원시키는 작용이 있는 것으로 사료된다.

REFERENCES

- Bassingthwaighe, J.B., and H. Reuter: *Calcium movements and excitation-contraction coupling in cardiac cells. In Electrical phenomena in the heart (De Mello ed.). Academic Press, New York, 1972.*
- Beeler, G.W., and H. Reuter: *Reconstruction of the action potential of ventricular myocardial fibres. J. Physiol. 268:177-210, 1977.*

- Bohr, D.F.: *Vascular smooth muscle updated*. *Circ. Res.* 32(6): 665-672, 1973.
- Bonnardeaux, J.L., and D. Regoli: *Action of angiotensin and analogues on the heart*. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 52:50-60, 1974.
- Dempsey, P.J., Z.T. McCallum, K.W. Kent, and T. Cooper: *Direct myocardial effects of angiotensin II*. *Am. J. Physiol.* 220(6):477-481, 1971.
- Earm, Y.E.: *Effect of calcium, lanthanum and manganese ions on the slow inward current and contraction in the potassium depolarized rabbit papillary muscle*. *Seoul J. Med.* 19(1):15-23, 1978.
- Fabiato, A., and F. Fabiato: *Calcium release from the sarcoplasmic reticulum*. *Circ. Res.* 40:119-129, 1977.
- Fleckenstein, A.: *Specific pharmacology of calcium in myocardium, cardiac pacemakers, and vascular smooth muscle*. *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 17:149-166, 1977.
- Freer, R.J., A.J. Pappano, M.J. Peach, K.T. Bing, M.J. McLean, S. Vogel, and N. Sperelakis: *Mechanism for the positive inotropic effect of angiotensin II on isolated cardiac muscle*. *Circ. Res.* 39(2):178-183, 1976.
- Furchgott, R.F., and S. Bhadrakom: *Reactions of strips of rabbit aorta to epinephrine, isoprenalarterenol, sodium nitrite and other drugs*. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 108:129-143, 1953.
- Hodgkin, A.L., A.F. Huxley, and B. Katz: *Measurement of current-voltage relations in the membrane of the giant axon of Loligo*. *J. Physiol., Lond.* 116:424-448, 1952.
- Inui, J., and H. Imamura: *Restoration by histamine of the calcium dependent electrical and mechanical response in the guinea-pig papillary muscle partially depolarized by potassium*. *Naunyn-Schmiedberg's Arch. Pharmacol.* 294: 261-269, 1976.
- Kim, K.W., S.I. Hwang, and K.Y. Nam: *Different mechanisms of K-induced contracture in isolated vascular and intestinal smooth muscles*. *Korean J. Physiol.* 13:41-50, 1979.
- Kohlhardt, M., P. Bauer, H. Krause, and A. Fleckenstein: *Differentiation of the transmembrane Na and Ca channel in mammalian cardiac fibres by the use of specific inhibitors*. *Pflügers Arch. Gesamte Physiol. Menschen Tiere.* 335:309-322, 1972.
- Langer, G.A.: *Heart: Excitation-contraction coupling*. *Ann. Rev. Physiol.* 35:55-86, 1973.
- Noble, D., and R.W. Tsien: *The repolarization process of heart cells*. In *Electrical phenomena in the heart* (De Mollo ed.). Academic Press, New York, 1972.
- Noble, D.: *The initiation of the heart*. Clarendon Press, Oxford, 1979.
- Pappano, A.J.: *Calcium-dependent action potentials produced by catecholamines in guinea-pig atrial muscle fibers depolarized by potassium*. *Circ. Res.* 27:379-390, 1970.
- Peach, M.J.: *Renin-angiotensin system: Biochemistry and mechanism of action*. *Physiol. Rev.* 57(2):313-370, 1977.
- Reuter, H.: *The dependence of slow inward current in Purkinje fibers on the extracellular calcium concentration*. *J. Physiol.* 192:479-492, 1967.
- Reuter, H.: *Divalent cations as charge carriers in excitable membranes*. *Prog. Biophys. Mol. Biol.* 26:1-43, 1973.
- Reuter, H.: *Properties of two inward membrane currents in the heart*. *Ann. Rev. Physiol.* 41: 413-424, 1979.
- Rich, T.L., and G.A. Langer: *A comparison of excitation-contraction coupling in heart and skeletal muscle: An examination of "Calcium-induced calcium release"*. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 7:747-765, 1975.
- Schneider, J.A., and N. Sperelakis: *Slow Ca⁺⁺ and Na⁺ responses induced by isoproterenol and methylxanthines in isolated perfused guinea-pig hearts exposed to elevated K⁺*. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 7:249-273, 1975.
- Trautwein, M.: *Membrane currents in cardiac muscle fibers*. *Physiol. Rev.* 53:793-835, 1973.

Vassalle, M.: *Electrogenesis of the plateau and pacemaker potential. Ann. Rev. Physiol. 41: 425-440, 1979.*

potential on the rapid availability of the sodium carrying system. J. Physiol. 127:213-224, 1955.

Weidmann, S.: *The effect of cardiac membrane*