

## 위 평활근의 부위별 전압-장력 관계에 관한 연구

서울대학교 의과대학 생리학교실, 충북대학교 의과대학 생리학교실\*  
동국대학교 의과대학 생리학교실\*\*

김 기 환 · 이 상 진\* · 서 석 효\*\*

(1989년 9월 7일 접수)

= Abstract =

### Regional Differences in Voltage-tension Relationship of Gastric Smooth Muscles in Guinea-pig

Ki Whan Kim, Sang Jin Lee\* and Suk Hyo Suh\*\*

*Departments of Physiology, college of Medicine, Seoul National University  
and Chung Buk National University\* and Dong Kuk University\*\**

Mechanical contractions and electrical activities of the fundic longitudinal and antral circular muscle fibers were investigated in order to elucidate topical differences of gastric motility. K-induced contracture was produced by exposure of muscle strips to high K Tyrode solution. Membrane potential and mechanical contraction were simultaneously recorded by conventional glass microelectrode method and single sucrose-gap technique. All experiments were performed in tris-buffered Tyrode solution which was aerated with 100% O<sub>2</sub> and kept 35°C.

The results obtained were as follows:

- 1) The resting membrane potential of circular muscle cells in the antral region was about 10 mV more negative than that in the fundic region.
- 2) The membrane potentials decreased almost linearly as the extracellular KCl concentration was increased both in antral circular muscle cells and in fundic longitudinal muscle cells.
- 3) The thresholdal K concentration of K-contracture was 15 mM (membrane potential, -48 mV) for the antral circular muscle strip and 20 mM for the fundic longitudinal muscle cells.
- 4) The ratio of membrane permeability coefficient for Na<sup>+</sup> and K<sup>+</sup>,  $P_{Na}/P_K$  ( $\alpha$ ) was 0.065 for antral circular muscle cells and was 0.108 for fundic longitudinal muscle cells.
- 5) K-contracture of antral and fundic smooth muscle strips showed the contracture composed of phasic and tonic components. The amplitude of the phasic component increased sigmoidally in a dose-dependent manner, whereas that of the tonic component was maximal at a concentration of 40 mM KCl and at the concentrations above or below 40 mM KCl the amplitude was reduced.
- 6) The inverse relationship between the amplitude of tonic component and extracellular KCl concentration in the range of 40 to 150 mM KCl was more prominent in the antral circular muscle strip than in the fundic longitudinal muscle strip, where the amplitude of the tonic component decreased less steeply and was maintained higher at the same high K concentrations.
- 7) The tonic component was totally dependent on the external Ca<sup>2+</sup> and completely abolished by

본 연구에 소요된 경비는 서울대학교 발전기금 대우학술연구비(S.N.U. Dae Woo Research Fund)의 지원에 의하여 충당되었음.

verapamil, while the phasic component was far less dependent on the external  $Ca^{2+}$  and partially suppressed by verapamil.

From the above results, the following conclusions could be made.

- 1) The phasic component of K-contracture is produced both by intracellular  $Ca^{2+}$  mobilization and by  $Ca^{2+}$ -influx from outside, while the tonic component is generated and maintained by the  $Ca^{2+}$ -influx through the potential-dependent  $Ca^{2+}$  channel.
- 2) The mechanism of reducing the free  $Ca^{2+}$  concentration in the myoplasm seems to be more developed in the antral circular muscle than in the fundic longitudinal muscle.
- 3) The lower resting membrane potential of the fundic longitudinal muscle cell reflects a relatively high  $P_{Na}/P_K$  ratio of about 0.108.

**Key Words:** Antral circular muscle, Fundic longitudinal muscle, K-contracture, Tonic component, Phasic component

## 서 론

위 (stomach)는 해부학적으로 위저 (fundus), 위체 (corpus) 및 유문동 (antrum)으로 나뉘고 있으나, 위운동 측면으로 보면 두 부위로 나눌 수 있다. 즉 분문에 가까운 1/3 정도 (근위부)는 위운동이 별로 없는 부위로서 주로 음식물의 저장고 역할 (reservoir function)을 하는 곳이고, 나머지 2/3 정도 (원위부)는 강력한 위상성 수축운동이 일어나는 부위로서 음식물과 위액을 혼합하여 소화를 촉진시키고 미즙 (gastric chyme)을 십이지장으로 내려보내는 위배출 과정을 조절하여 주는 곳으로 해석되고 있다 (Meyer, 1987).

위운동은 위벽을 구성하고 있는 3층의 위 평활근이 수축함으로써 나타난다. 위 평활근 세포의 수축성은 ① 평활근 세포 자체의 특성, ② 내원성 및 외원성 신경, ③ 위장관 혈문을 포함한 액성인자들에 의하여 조절되고 있다. 그러므로 위운동이 부위별로 차이가 나는 원인을 밝히기 위하여는 두 부위에 존재하는 평활근 세포 자체의 특성과 지배신경 및 액성물질의 영향에 대한 평활근 세포반응의 부위별 차이점을 밝히고 그 기전을 규명하는 과정이 요구된다.

지금까지 밝혀진 세포 자체의 특성에 나타난 차이점으로서, 위저부 평활근 세포는 안정 막전압이 낮고 (-50 mV 정도), 자발적 서파 (slow wave)의 발생이 거의 없으나 이에 비하여 유문동 부위의 평활근 세포는 안정 막전압이 크고 (-65 mV 정도), 근

원성의 규칙적인 서파를 발생시키고 간혹 서파 정점에서 활동전압이 나타나기도 한다 (Komori and Suzuki, 1986).

유문동 부위의 윤상근 (circular muscle) 세포에는 Ca pump가 세포내 free  $Ca^{2+}$  농도를 저하시키는 중요 기전으로 작용하고, 위저부 종주근 (longitudinal muscle)에서는 Na-Ca 교환기전이 중요하게 작용한다는 보고가 있다 (Kuriyama et al, 1975). 또한 세포내  $Ca^{2+}$  저장고로 알려진 근장그물 (sarcoplasmic reticulum, SR)은 골격근이나 심장근에 비하여 내장 평활근에는 덜 발달되어 있으며, 종주근보다는 윤상근에 vesicles이나 SR이 비교적 많이 발달되어 있다 (Kuriyama et al, 1975).

위에 분포하는 자율신경계는 adrenergic nerve와 cholinergic nerve 이외에 non-adrenergic, non-cholinergic nerve가 보고되었으며, 이 신경들은 기니피그 위에도 존재함이 확인되었고 연동운동시 항문축 이완현상에 참여하는 것으로 보인다 (Burnstock, 1981, 1986). 위저부 신경을 전기자극시 흥분성 접합부 전압 (excitatory junction potential)이 유발되고, 유문동 조직 자극시에는 억제성 접합부 전압 (inhibitory junction potential)이 기록되는 바, 이와 같은 차이점은 두 부위의 평활근 세포의 ACh에 대한 감도의 차이로 설명하고 있다 (Komori and Suzuki, 1986).

평활근 세포막을 통한 여러가지 수축성의 변화 현상을 설명하기 위하여 2가지 종류의  $Ca^{2+}$  통로 ( $Ca^{2+}$  channel)를 생각하고 있다. 즉 막전압에 좌우되는  $Ca^{2+}$  통로 (potential-sensitive  $Ca^{2+}$  channel)

와, 수용체의 매개로 열리는  $Ca^{2+}$ 통로(receptor-operated  $Ca^{2+}$  channel, ROC)로 나누고 있으며  $Ca^{2+}$  길항제인 verapamil은 ROC에는 영향을 못미치고 있다(Bolton, 1979).

본 실험에서는 위저부와 유문동 부위의 기능상의 차이점을 우선 두 부위의 평활근 세포 자체의 특성에서 찾아보고자 시도하였다. 모든 내장 평활근 수축에도  $Ca^{2+}$ 이 흥분-수축연결물질(excitation-contraction coupler)로서 작용하며 수축의 크기는 횡문근에서와 마찬가지로 평활근 세포내의 free  $Ca^{2+}$  농도로 결정됨이 알려져 있다.

그러므로 본 연구에서는 유문동 윤상근과 위저부 중주근에서 막전압과 장력 발생과의 관계를 비교분석함으로써 두 부위의 수축반응의 차이점을 설명하고자 시도하였다. 막전압을 변화시키고 유지시키는 방법으로 일종의 화학적 막전압고정법(chemical-voltage clamp)인 세포외  $K^+$  농도를 여러가지로 높여  $K^+$ -경축을 유발시켜 막전압과 장력발생을 동시에 측정하였다.

## 실 험 방 법

체중 300g 내외되는 기니피그를 암수 구별없이 실험동물로 사용하였다. 후두부를 강타하여 실신시키고 경동맥을 절단하여 즉사시킨 뒤 개복하여 위를 적출하였다. 실온에서 100%  $O_2$ 로 평형을 이루고 있는 phosphate-완충 Tyrode 용액(NaCl 147, KCl 4,  $MgCl_2 \cdot 6H_2O$  1.05,  $CaCl_2 \cdot 2H_2O$  2,  $NaH_2PO_4$  0.42,  $Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$  1.81, glucose 5.5 mM, pH 7.35)으로 채워진 준비용기 내에서 유문동(antrum)과 위저부(fundus)를 분리 절제하고 소만부위를 따라 절개하여 각각 위점막을 노출시켰다.

현미경 하에서 점막층을 박리하여 윤상근이 표면에 노출되게끔 깨끗이 분리하였다. 유문동과 위저부에서 길이 10mm, 너비 2mm(wet weight 5mg 내외)되는 조직절편을 만들 때에 유문동에서는 윤상근의 주행방향으로, 위저부에서는 중주근의 주행방향으로 잘라 실험용 조직으로 사용하였다. 준비된 조직절편은 실온에서 1시간 이상 충분한 100% 산소를 공급하면서 회복시켰다.

기계적 수축에 관한 실험은 준비된 조직절편의 양

단을 근육고정기에 묶고 수직형 실험용기(vertical chamber, 용량 100 ml)를 이용하여 35°C에서 완전히 이완시킨 상태로 1시간 정도 새환경에서 회복시킨 뒤 실험을 시작하였다. 실험용액은 35°C에서 100%  $O_2$ 로 평형을 이루고 있는 tris-완충 Tyrode 용액(NaCl 147, KCl 4,  $CaCl_2 \cdot 2H_2O$  2,  $MgCl_2 \cdot 6H_2O$  1.05, tris·HCl 5, glucose 5.5 mM, pH 7.35)을 사용하였다. 수축곡선을 근육 고정기와 장력변환기(Grass FT-03)를 연결시켜 등장성 수축(isometric contraction)을 기록기(Device physiograph)에 기록하였다. 자발적 수축을 하는 유문동 조직은 수축빈도와 수축크기가 일정하게 나타날 때, 근육 길이를 단계적으로 늘려 길이-장력곡선(length-tension curve)을 그려 최적길이를 정한 뒤, 이 길이에서 모든 실험조건을 가하였다. 그러나 자발적 수축이 거의 없거나, 있더라도 매우 약한 위저부에 대하여는 조직과 나란히 설치된 2개의 백금전극을 통하여 전장자극(electrical field stimulation)을 가하여 위상성 수축을 유발시키면서 최적길이를 구한 뒤 실험을 진행시켰다.

유문동 윤상근과 위저부 중주근의 전기활동과 수축곡선을 동시에 기록하기 위하여 용량 2 ml 정도되

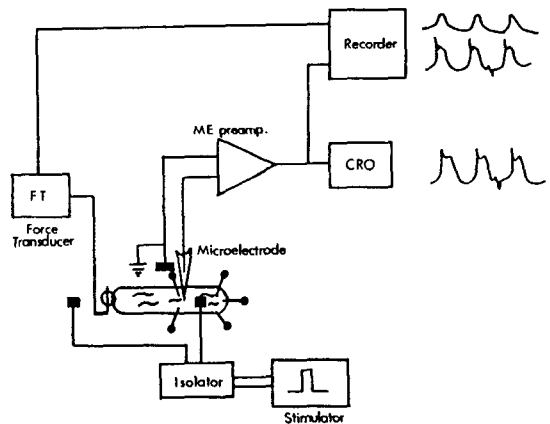


Fig. 1. A schematic representation of the isometric contraction and the electrical activity recording system. The isometric contraction was recorded through a tension transducer from the smooth muscle preparation. And the microelectrode puncture technique for intracellular recording of the electrical activities was employed in this experiment.

는 수평형 실험용기 (horizontal chamber)를 사용하였다. 실험용기 내에 설치된 고무판 위에 조직절편의 한쪽은 작은 핀들로 고정시키고, 다른쪽 끝에는 실로 고리를 만들어 장력변환기에 연결시켜 기록기에 수축곡선을 기록할 수 있도록 장치하였다. 35°C에서 100% O<sub>2</sub>와 평형을 이루고 있는 tris-완충 Tyrode용액을 2~3 ml/min 속도로 1시간 이상 관류시켜 새환경에서 완전하게 회복되도록 하였다. 평활근 세포의 전기활동 측정에는 3 M KCl로 채운 유리 미세전극 (glass microelectrode)을 유문동 운상근에서는 점막쪽으로, 위저부 중주근에서는 장막 (serosa) 쪽으로부터 세포내에 삽입하여 펜기록기에 기록하였다 (Fig. 1).

유리미세전극은 전극 끝저항 (tip resistance)이 40~80 MΩ되는 것만을 골라서 사용하였다. 경축곡선과 막전압을 동시에 기록하는 실험에서는 단일 슈크로즈-간극법 (single sucrose-gap method)을 사용하였다 (Fig. 2). 슈크로즈 구간의 폭은 1 mm이었다.

실험용액 중 K-용액은 동량의 Na를 제거하여 등삼투적으로 만들었고, K-제거용액 (K-free

Tyrode)은 4 mM K을 Na로 대체시켰다. K-경축에 관한 실험에는 신경의 영향을 차단하기 위하여 전 실험기간동안 신경흥분 차단제들 (tetrodotoxin 3×10<sup>-7</sup> M, guanethidine 5×10<sup>-6</sup> M, atropine 10<sup>-6</sup> M)이 포함된 조건에서 실험을 진행하였다.

실험에 사용된 약물은 다음과 같다.

Atropine sulfate (Sigma)

Guanethidine sulfate (Tokyo Kasei)

Tetrodotoxin (TTX) (Sankyo)

Verapamil (Isoptin, Knoll AG)

## 실 험 성 적

### 1. 세포의 K가 유문동 운상근의 수축성과 막전압에 미치는 영향

세포밖 K<sup>+</sup> 농도를 정상 4 mM로부터 150 mM까지 단계적으로 높이면 특징적인 위상성 성분과 긴장성 성분으로 이루어진 K-경축 (K-contracture)이 나타남을 Fig. 3에 나타내었다.

15 mM 정도에서 K-경축이 일어나기 시작하였고 세포의 K 농도가 증가됨에 따라 K-경축의 크기가 증가되었는데 특히 위상성 수축성분이 비례하여 증가되었다. 이때 유리미세전극을 이용하여 직접 측정된 막전압을 보면 (Fig. 1) 4 mM K이 포함된 정상 Tyrode 용액에서는  $-62.3 \pm 2.1$  mV (mean ± S. D., n=20)이었고, 10 mM K에서  $-52.2 \pm 2.0$ , 20 mM K에서  $-45.8 \pm 3.5$ , 40 mM K에서  $-30.6 \pm 1.4$ , 60 mM K에서  $-22.8 \pm 1.9$ , 100 mM K에서  $-14.2 \pm 1.9$ , 그리고 150에서  $-6.0 \pm 2.4$  mV이었다. 세포의 K을 완전히 없앤 K-free Tyrode 용액에서는 막전압이 서서히 탈분극되면서 자발적 수축은 정지되고 지속적 수축인 경축이 유발되었다 (K-free contracture, Fig. 5).

단일 슈크로즈-간극법을 이용하여 K-경축과 막전압의 변화를 동시에 기록한 결과를 Fig. 6에 나타내었다. 세포의 K 농도를 (A)에서는 150 mM K에 노출시켰다가 이어서 40 mM K로 낮추는 방법을 썼으나, (B)에서는 노출순서를 (A)와는 반대로 낮은 농도에서 단계적으로 높은 농도로 변화시켰다.

K-경축의 위상성 수축은 막전압이 40 mM K나 150 mM K에 의하여 탈분극이 일정 수준으로 진행

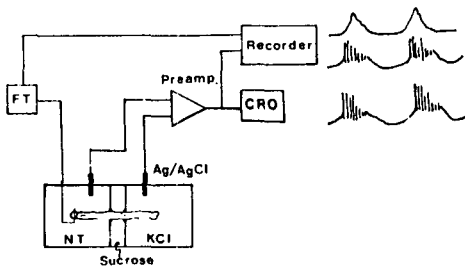
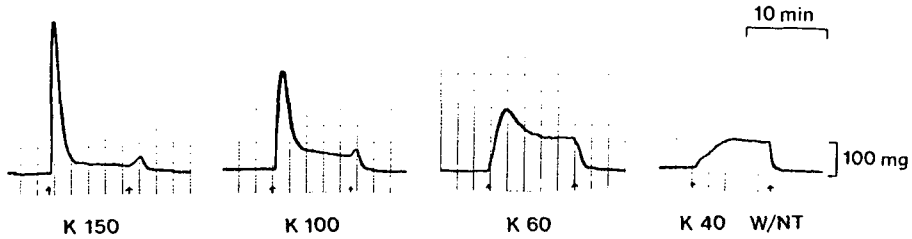
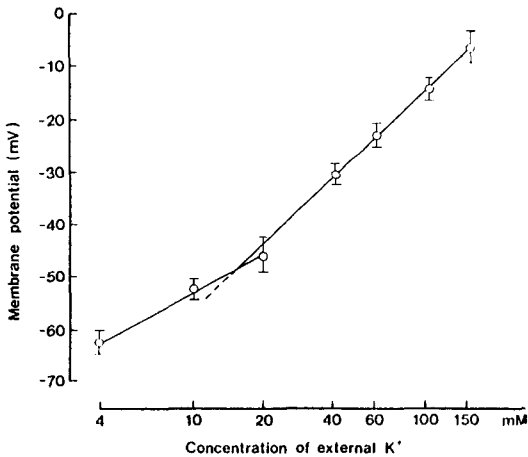


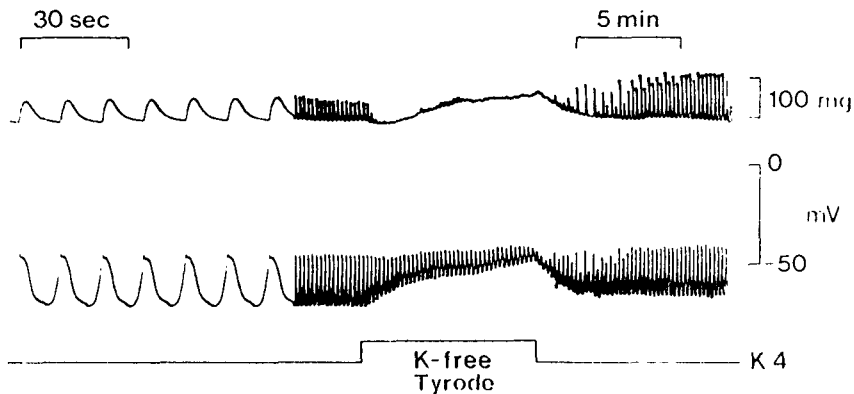
Fig. 2. Diagram of the single sucrose-gap apparatus. The muscle chamber is consisted of three compartment; NT for perfusion of normal Tyrode or test solution, sucrose solution, and KCl compartment for perfusion of isotonic KCl Tyrode solution. A muscle strip is mounted as shown, one end (KCl compartment) fixed and the other (NT compartment) connected to a force transducer. The width of sucrose-gap is 1 mm. Electrical activities are recorded through the two Ag/AgCl recording electrodes connected to preamplifier, CRO and recorder. Mechanical contractions are measured through the force transducer (FT) connected to recorder.



**Fig. 3.** Dependence of the contracture produced by high potassium Tyrode solution on extracellular KCl concentration (mM) in the antral circular muscle strip of guinea-pig stomach. In each  $K^+$ -rich solution, tetrodotoxin ( $3 \times 10^{-7}M$ ), guanethidine ( $5 \times 10^{-6}M$ ) and atropine ( $10^{-6}M$ ) were present to eliminate the effects of  $K^+$ -induced release of transmitter. Biphasic contracture, rapid initial phasic and slow subsequent tonic contraction, was developed by the exposure of the strip to high K and low Na Tyrode solution.



**Fig. 4.** Relationship between extracellular potassium concentration and membrane potential in the antral circular muscle cells of guinea-pig stomach. This diagram reveals that the membrane potentials decrease linearly over the range of 40 to 140mM KCl. Each bar represents the standard deviation of mean (Mean  $\pm$  SD, n = 5 to 20).



**Fig. 5.** The contracture produced by K-free Tyrode solution in the antral circular muscle strip of guinea-pig stomach (K-free contracture). Spontaneous contractions were abolished initially and replaced to contracture gradually as the membrane potential was depolarized by K-free Tyrode solution.

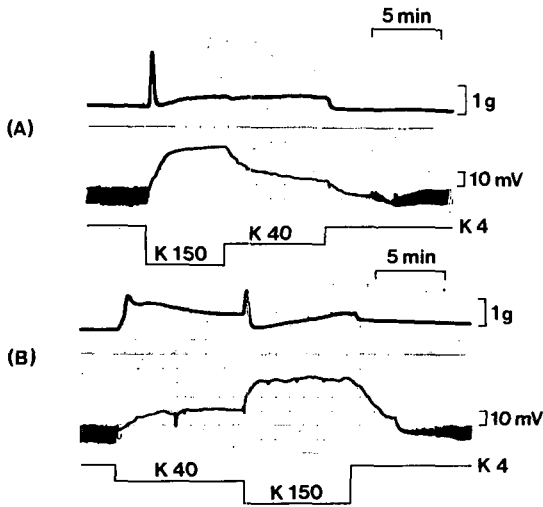


Fig. 6. Relationship between isometric tension and membrane potential in the antral circular muscle strip of guinea-pig stomach. Isometric tension and membrane potential were measured simultaneously by use of single sucrose-gap technique. Upper trace, isometric tension; lower trace, membrane potential respectively in (A) and (B) panels. The sequence of exposure to two kinds of high K (K 40 and K 150 mM) Tyrode solution was changed alternately. The phasic contraction was developed completely during the change of membrane potential, and at the constant level of depolarization the tonic contraction was developed.

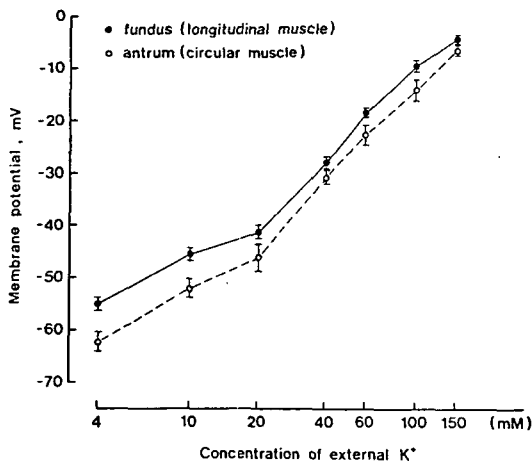


Fig. 7. Relationship between extracellular K concentration and membrane potential in the antral circular and fundic longitudinal muscle cells of guinea-pig stomach. Each bar represents the standard deviation of mean.

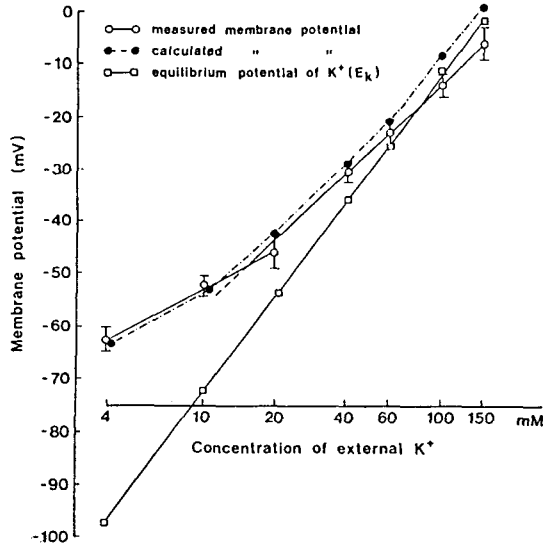
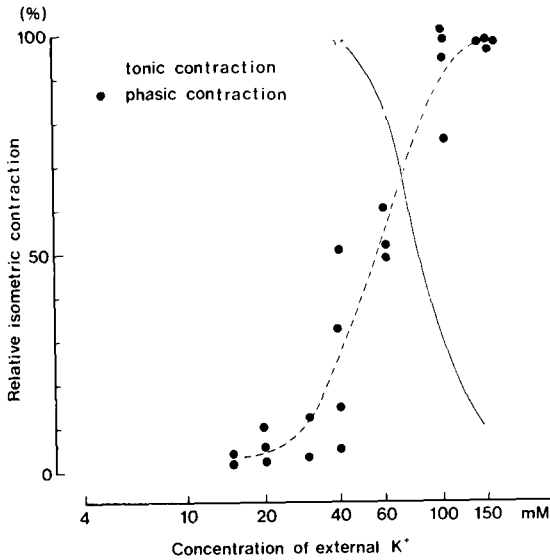


Fig. 8. Comparison of the measured membrane potential with the theoretically calculated one (Goldman equation) in antral circular muscle of guinea-pig stomach. The measured value corresponds well to the theoretical one ( $P_{Na}/P_K=0.065$ ).

되고 있는 도중에 이미 완료되었고, 긴장성 수축성 분은 탈분극이 일정한 수준을 유지하고 있는 동안에 항정상태에 도달하였다.

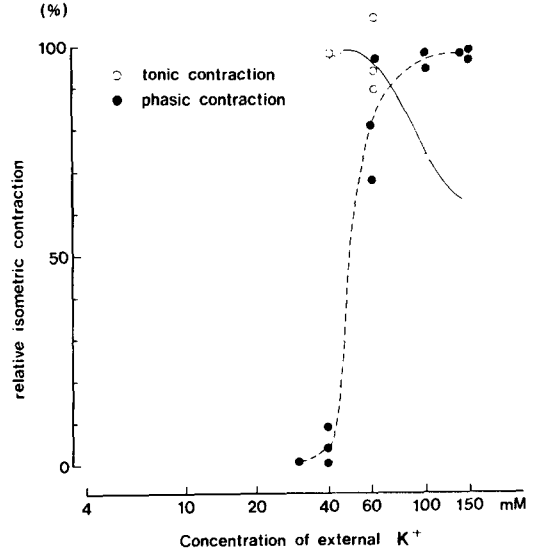
### 2. 세포의 K가 유문동 운상근과 위저부 종주근에서 막전압에 미치는 효과 비교

위저부 종주근에 유리미세전극을 삽입하여 측정 한 막전압이 세포의 K 농도변화에 따라 달라지는 것을 Fig. 7에 나타내었다. 정상 Tyrode 용액(4 mM K)에서는  $-55.0 \pm 1.04$  (mean  $\pm$  S.D., n=15) 이었고, 10 mM K에서  $-45.5 \pm 0.99$ , 20 mM K에서  $-41.5 \pm 1.15$ , 40 mM K에서  $-28.4 \pm 1.04$ , 60 mM K에서  $-18.8 \pm 0.72$ , 100 mM K에서  $-9.4 \pm 0.35$ , 150 mM K에서  $-4.3 \pm 0.54$ 이었다. 유문동 운상근의 측정치는 Fig. 4에 나타낸 것과 동일한 것으로 안정시 정상 Tyrode 용액에서  $-62.3 \pm 2.1$  mV이었고, 위저부 종주근에서는  $-55.0 \pm 1.04$  mV로서 안정 막전압이 위저부 종주근에서 7mV 정도 낮은 값을 보였고, 세포의 K 농도를 단계적으로 높여 막전압을 탈분극시킬 경우 각각의 K농도에서 항상 위저부 종주근의 막전압이 낮은 값을 나타내었다.



**Fig. 9.** Relationship between extracellular potassium concentration and two components of K-contracture in the antral circular muscle strip of guinea-pig stomach. The threshold of K-contracture was on the range of 15 to 20 mM KCl. The amplitude of tonic component was maximal at the concentration of 40 mM KCl, and above or below K 40 the amplitude was reduced in a dose-dependent manner. The amplitude of phasic component, however, was increased sigmoidally in a dose-dependent manner.

Fig. 8에 안정상태의 세포막이 순전히  $K^+$ 에만 투과성을 보인다고 가정하고 얻어진 K 평형전압 ( $E_K$ )을 직선으로 나타내었다(Nernst equation). 측정치는 이론적  $E_K$  값과는 상당한 차이가 있음을 보여준다. 특히 4-40 mM  $K^+$  농도 범위에서 이론치와 측정치 간에는 상당한 차이를 보이는 것으로 보아 안정 막전압이  $K^+$ 에 대한 투과성만으로 결정될 것이라는 가정에서 크게 벗어난 것을 알 수 있었다. 그러므로 유문동 운상근 세포막은  $K^+$  이외에 다른 이온에 대한 투과성도 고려하여야만 이러한 현상을 설명할 수 있을 것으로 생각되어  $Na^+$ 에 대한 투과성도 고려 하였다. 각 이온의 투과성 크기를 직접 측정하기는 어렵기 때문에  $K^+$ 과  $Na^+$ 의 투과성 비율 ( $\alpha$ ) ( $\alpha = P_{Na}/P_K$ )을 생각하여 막전압을 생각하는 Goldman-Hodgkin-Katz의 식을 이용하였다.



**Fig. 10.** Relationship between extracellular potassium concentration and two components of K-contracture in the fundic longitudinal muscle strip of guinea-pig stomach. Note that the amplitude of tonic component was decreased more gradually and maintained larger than that of antral circular strip at the same high K concentration.

$$E_m = \frac{RT}{F} \ln \frac{[K^+]_o + \alpha [Na^+]_o}{[K^+]_i + \alpha [Na^+]_i}$$

여기서  $[K^+]_i = 150 \text{ mM}$ ,  $[Na^+]_i = 20 \text{ mM}$ 로 가정하고 계산하였다.

우선 4 mM K에서 막전압 측정치를  $-65 \text{ mV}$ 로 하여 위 식에 대입하여  $\alpha$ 를 계산한 다음 ( $\alpha = 0.065$ ), 농도를 여러가지로 대입하여 얻은 계산치를 그림에 plot한 결과 측정치와 계산치가 비교적 잘 일치함을 보여주고 있다. 즉 정상 대조시 유문동 운상근 세포막은  $K^+$ 뿐만 아니라  $Na^+$ 에 대해서도 상당히 투과성을 보인다고 해석된다. 마찬가지로 위저부 중주근에서 계산된  $\alpha$ 값이 0.108인 점으로 보아 유문동 운상근에 비하여 위저부 중주근은 안정 막전압에  $Na^+$  투과성이 보다 더 기여함을 알 수 있었다.

### 3. 유문동 운상근과 위저부 중주근에서 위상성 및 긴장성 수축성분 비교

세포의 K 농도에 따른 K-경축에서 위상성 및 긴

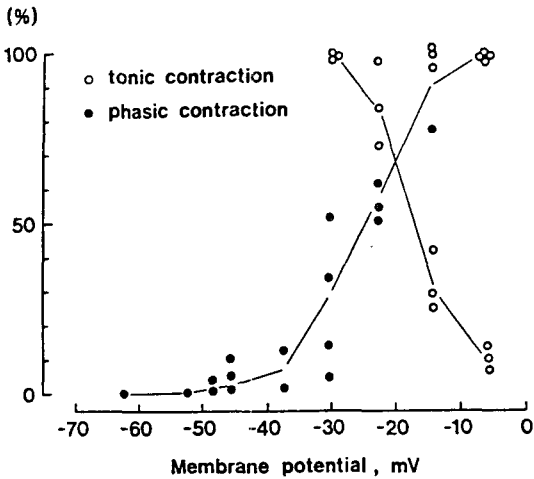


Fig. 11. Voltage-tension curves for antral circular smooth muscle of guinea-pig stomach.

장성 수축성분의 크기를 Fig. 9(유문동 윤상근)과 Fig. 10(위저부 종주근)에 나타내었다. 각 그림에서 긴장성 수축은 40 mM K에서의 크기를 100%로 삼고 각 농도에서 발생하는 크기를 이에 대한 상대적 비율로 표시하였고, 위상성 수축은 150 mM K에서의 크기를 100%로 하고 이에 대한 상대적 크기로 표시하였다.

유문동 윤상근에서 보면 세포외 K 농도가 15 mM 이상되면 위상성 수축이 나타났고 40-100 mM K 범위에서 가장 급격하게 그 크기가 증가되었으며 그 이상에서는 완만하게 커지는 S자형의 변화 경과를 보였다. 이에 반하여 긴장성 수축은 40 mM K에서 가장 컸고, 세포외 K 농도를 더 높이거나 낮추면 그 크기가 농도의존적으로 감소되었다. 150 mM K에서 긴장성 수축성분은 40 mM K 크기의 10% 정도로 감소되었다.

위저부 종주근에서 위상성 수축과 긴장성 수축의 크기가 세포외 K 농도변화에 따라 유문동 윤상근에서와 유사한 수축반응을 보였지만, 뚜렷한 차이점은 긴장성 수축의 크기가 40 mM K에서 150 mM K로 세포외 K 농도를 높여도 심하게 감소되지 않는 점이다. 150 mM K 영향하에서 나타나는 긴장성 수축성분의 크기는 최대치의 65% 정도나 될 정도로 크게 유지되었다.

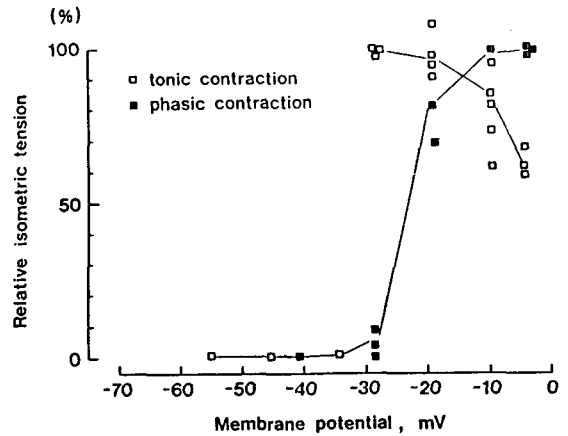


Fig. 12. Voltage-tension curves for fundic longitudinal smooth muscle of guinea-pig stomach.

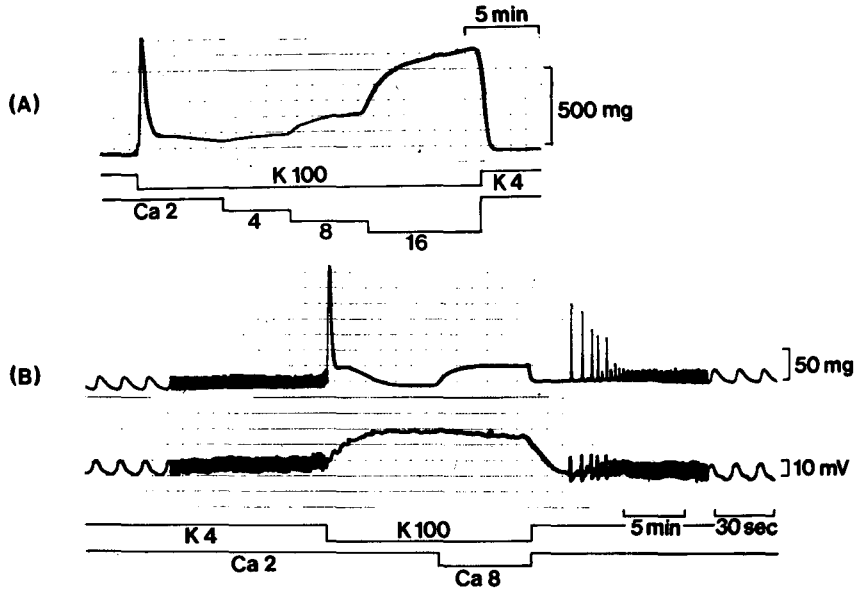
#### 4. 유문동 윤상근과 위저부 종주근에서 막전압-장력 관계

Fig. 11(유문동 윤상근)과 Fig. 12(위저부 종주근)에 막전압과 장력과의 관계를 나타내었다. 위상성 수축은 유문동 윤상근의 경우 -40 mV ~ -10 mV 범위에서 급격하게 크기가 증가되었는데, 위저부 종주근에서는 -30 mV ~ -10 mV에서 급변하였다. 긴장성 수축은 두 부위에서 -30 mV에서 최고 값을 보였고, 탈분극될수록 장력크기는 감소되었는데 감소율이 유문동 윤상근이 위저부 종주근에서보다 훨씬 크게 나타났다. -30 mV에서 과분극되는 쪽으로 막전압이 변할 경우 긴장성 수축의 크기는 마찬가지로 감소되었으나 부위별 차이점을 아직 이 실험에서는 구하지 못하였으므로 앞으로의 실험에서 추가하여야 될 부분으로 생각된다.

#### 5. 세포외 Ca<sup>2+</sup>이 K-경축에 미치는 영향

100 mM K로 K-경축을 유발시킨 뒤 세포외 Ca<sup>2+</sup> 농도를 2 mM로부터 4, 8, 16 mM로 높이면 이에 따라 긴장성 수축이 단계적으로 증가되고 있음을 Fig. 13(A)에 표시하였다. 이와같은 긴장성 수축성분에 대한 Ca<sup>2+</sup> 효과가 막전압과는 어떤 관계가 있는가를 보여주는 그림이 Fig. 13(B)에 나타나 있다. 단일 슈크로즈-간극법을 이용하여 K-경축과 막전압

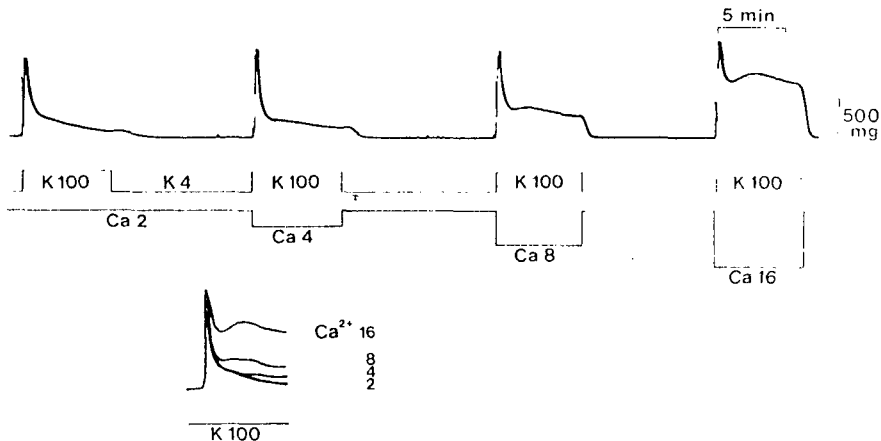




**Fig. 13.** Graded responses in tonic component of K-contraction by the administration of external Ca in the antral circular muscle strip of guinea-pig stomach.

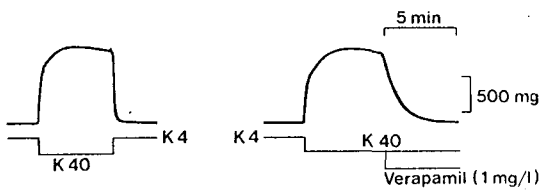
(A) The amplitude of tonic component was increased as the concentration of external Ca increased from 2 to 16 mM Ca.

(B) Relationship between isometric tension and membrane potential. Membrane potential was measured by use of single sucrose-gap technique. Upper trace, isometric tension; lower trace, membrane potential. The depolarized status of membrane potential was steadily maintained even during the increase of tonic component by extra Ca (8 mM Ca).

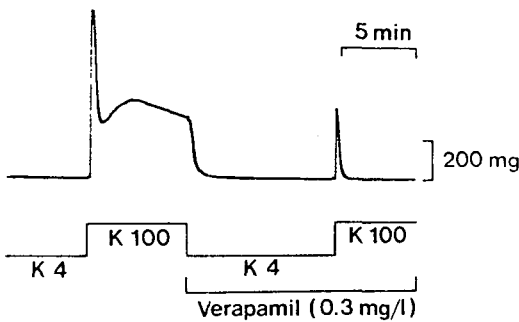


**Fig. 14.** The effect of external Ca on K-contraction in the antral circular muscle strip of guinea-pig stomach. The tonic component was slightly increased in this range.

을 동시에 기록하면서, 100 mM로 전형적인 K-경축을 유발시킨 뒤 세포의  $Ca^{2+}$  농도를 2 mM로부터 8 mM로 높이면 막전압은 100 mM K로 생긴 탈분극 상태가 약간 감소되어 유지되었으나, 긴장성 수



**Fig. 15.** The effect of Ca-antagonist, verapamil on the tonic component of K-contracture in the fundic longitudinal muscle strip of guinea-pig stomach. A tonic contraction induced by 40 mM KCl was completely suppressed by 1 mg/l verapamil.



**Fig. 16.** Partial separation of phasic component from the tonic component of K-contracture by administration of verapamil in the antral circular muscle strip of guinea-pig stomach. The tonic component of K-contracture was completely suppressed by the pretreatment with verapamil (0.3 mg/l), while the phasic component remained partially.

축은 증가되고 있음을 보여준다.

Fig. 14에는 윤상근에서 100 mM K Tyrode 용액 내의  $Ca^{2+}$  농도를 2, 4, 8 및 16 mM로 변화시켰을 때 나타나는 K-경축곡선의 모습을 나타내었다. 이와같은 조건에서 위상성 수축은  $Ca^{2+}$  농도 증가에 따라 약간 커졌으나, 긴장성 수축이 농도-의존적으로 뚜렷하게 증가되었다. 하단에 K-경축곡선들을 중첩시켜 이러한 현상을 보다 명료하게 표시하였다.

### 6. 칼슘 길항제가 K-경축에 미치는 영향

세포막의  $Ca^{2+}$ 통로 차단제인 verapamil을 이용하여 K-경축에 동원되는  $Ca^{2+}$  공급원에 대하여 실험한 결과를 Fig. 15와 Fig. 16에 나타내었다. 위저부

중주근 절편에서 40 mM K로 일정한 크기의 지속적인 긴장성 수축이 유지되는 상태에 verapamil(1 mg/dl)을 투여하자 서서히 완전 이완되었다(Fig. 15).

유문동 윤상근 절편에서 100 mM K로 K-경축을 일으켜 대조곡선으로 삼고 다시 정상 Tyrode 용액으로 갈아 조직을 회복시키면서 100 mM K에 다시 접촉시키기 10분 전부터 약간 낮은 농도인 0.3 mg/l verapamil을 투여하면 K-경축 곡선 중 긴장성 수축 성분은 완전히 억제되고, 위상성 수축성분이 일부 남아 있음을 Fig. 16에 보여주고 있다.

이와같은 결과는 K-경축의 위상성 수축성분 중에는 세포내  $Ca^{2+}$  공급원으로부터  $Ca^{2+}$ 이 공급되어 있음을 암시하고 있으며, 긴장성 수축성분의 주요  $Ca^{2+}$  공급원은 세포막의  $Ca^{2+}$  통로를 통한  $Ca^{2+}$  유입이 될 것으로 추측된다.

## 고 찰

세포밖  $K^+$  농도변화가 평활근에 미치는 영향은 매우 복잡하고 다양하다. 세포밖  $K^+$ 이 전혀없는 K-free Tyrode 용액에서는 기니피그 결장뉴의 모든 반응능력이 소실되었고(Axelsson and Holmberg, 1971), 혈관 평활근에서는 오히려 경축이 일어나 이것을 K-free contracture라고 부른다(Bonaccorsi et al, 1977). 본 실험에서는 유문동 윤상근의 경우 K-free Tyrode 용액에서 막전압이 탈분극되면서 자발적 수축이 사라지면서 경축이 나타났다(Fig. 5). K-free contracture의 발생기전으로는 K-free Tyrode 용액에서 세포막의 electrogenic Na-K pump가 억제되면서 막전압이 탈분극되었고, 이에 따라  $Ca^{2+}$  유입량이 증가되면서 경축이 발생된 것으로 해석된다.

$K^+$  농도가 정상 생리적인 범위 내에서 증가하면 혈관 평활근은 이완을 하는데 이러한 기전은 근육운동시에 나타나는 국소적인 반응성 출혈(reactive hyperemia) 현상에 중요한 역할을 할 것으로 추측되며(Anderson et al, 1972; Norton and Detar, 1972), 이완기전은  $K^+$  투과성 증가로 인한 과분극 상태가 이완을 초래할 것으로 해석된다(Wahlström, 1971).

세포밖 K 농도를 15 mM 이상으로 높이면 경축이 일어나는데(Bohr, 1973), 수축곡선은 위상성 및 긴장성 수축성분으로 구성되어 있으며 위상성 및 긴장성 수축성분의 상대적 비율은 평활근 조직에 따라 다양하지만 일반적으로 활동전압을 발생하는 흥분성 조직(결장뉴, 유문동)은 큰 위상성 수축과 작은 긴장성 수축을 나타내고, 기관지, 폐동맥, 위저부와 같이 흥분성이 낮은 평활근 조직은 작은 위상성 수축과 큰 긴장성 수축을 보이는 것이 보통이다(Suzuki et al, 1976; Casteels et al, 1977).

세포밖 K 농도가 높아짐에 따라 막전압이 점차 저분극이 되면 세포막의  $Ca^{2+}$  투과성이 커져 세포 내로의  $Ca^{2+}$  유입이 많아지고(Briggs, 1962; Chujyo and Holland, 1963), 또한 세포내 저장고로부터  $Ca^{2+}$  유리도 많아져(Bohr, 1973) 세포내  $Ca^{2+}$  농도가 높아져 지속성 수축인 K-경축이 발생한다(Ebashi, 1976).

K-경축의 두가지 수축성분 즉 위상성 성분과 긴장성 성분에 참여하는  $Ca^{2+}$  공급원에 대하여는 의견이 대립되어 있다. 즉 세포밖에서 유입되는  $Ca^{2+}$  이 두 성분에 모두 관여하거나, 초기의 경축발생을 일으키며 긴장성 성분 유지에도 큰 역할을 한다는 설(Imai and Taketa, 1967; Johnishi and Suano, 1978)과 초기의 위상성 수축성분은 세포내 저장고로부터의  $Ca^{2+}$  유리에 기인되며 긴장성 성분은 세포막을 통한  $Ca^{2+}$  유입에 주로 의존한다는 설(Urakawa and Holland, 1964; Anderson and Djärv, 1978)등이다.

본 실험의 결과를 보면 유문동 윤상근 조직에서 세포밖 K 농도와 막전압간에는 직선적인 관계가 있어(Fig. 4) 세포밖 K 농도를 높이면 막전압은 농도-의존적으로 저분극됨을 알 수 있다. 평활근 세포막에 존재하는  $Ca^{2+}$  통로 중 potential-sensitive  $Ca^{2+}$  channel은 막전압의 탈분극 정도에 따라 통로가 열려(즉  $Ca^{2+}$  투과성 증가)  $Ca^{2+}$ 이 세포내로 유입될 것이다.

본 실험의 결과 중 유문동 윤상근이나 위저부 중주근의 K-경축에서 모두 위상성 수축성분은 탈분극 정도에 비례하여 크기가 증가되었고, 반면에 긴장성 수축은 40 mM K를 정점으로 K 농도 증가 혹은 감소에 따라 감소되었다(Fig. 9, 10).

이와같은 결과는 위상성 수축은 세포내  $Ca^{2+}$  유리와  $Ca^{2+}$  유입에 의하여 발생될 가능성을 암시하며, 이에 대하여 긴장성 수축성분은  $Ca^{2+}$  통로를 통한  $Ca^{2+}$  유입량에 의하여 크기가 결정되었을 가능성을 짐작케 하였다. 이와같은 생각을 뒷받침해주는 실험사실로는 우선 Fig. 16의 결과로서 K-경축의 위상성 수축성분의 일부는 탈분극으로 세포내  $Ca^{2+}$  저장고에서  $Ca^{2+}$ 이 유리되어 발생되었음을 증명할 수 있었다. 또한 K-경축에 대한  $Ca^{2+}$  투여효과를 보면 Fig. 13, Fig. 14 및 Fig. 15 결과로 분명히 긴장성 수축은 세포밖에서 유입되는  $Ca^{2+}$ 에 의하여 발생유지됨을 알 수 있었다. 즉 Fig. 13에서는 100 mM K로 막전압을 일정하게 탈분극 상태로 고정시키고(화학적 막전압 고정법), 세포밖  $Ca^{2+}$  농도를 증가시켜 세포안밖의  $Ca^{2+}$  농도경사를 높여  $Ca^{2+}$  유입량을 늘린 경우이고, Fig. 14는 100 mM K와 다른 농도의  $Ca^{2+}$ 을 넣어 K-경축 곡선의 두 성분에 나타나는 효과를 본 실험으로서 역시 긴장성 성분은  $Ca^{2+}$  농도에 뚜렷하게 농도-의존적으로 좌우되었고, 위상성 수축성분도 약간의 차이가 나는 점으로 보아 세포밖에서 유입되는  $Ca^{2+}$  이 위상성 수축에도 관여한 것으로 판단된다.

세포밖 K 농도가 40~150 mM 범위 내에서는 긴장성 수축크기가 오히려 역비례 관계가 있는 점은  $Ca^{2+}$ 의 전류-전압곡선(current-voltage diagram, I-V diagram)의 특성상 아마도 위 평활근 세포의 경우에는  $Ca^{2+}$  전류가 최고치를 보이는 막전압이 40 mM K(-30 mV 근처)와 60 mM K(-23 mV 근처)에 있기 때문에 K 농도를 더 높이면 막전압이 더 감소되면서  $Ca^{2+}$  유입량이 줄어들어 긴장성 수축크기가 감소되는 것으로 해석되었다. 유문동 윤상근과 위저부 중주근에서 긴장성 수축성분과 K 농도간의 이러한 역비례 관계가 윤상근에서 훨씬더 예민하여 경사도가 급격한 사실은 두 부위의 평활근 세포에서, 세포내에 증가된  $Ca^{2+}$ 을 없애는 기전의 활성화도에 차이가 있을 가능성을 암시하여 준다. 평활근 근장내에서  $Ca^{2+}$ 을 없애거나 격리하여 숨기는 방법에는 ① SR내로 재회수, ② Na-Ca 교환기전으로 제거, ③ 능동적  $Ca^{2+}$  배출(Ca-pump), ④ 세포내  $Ca^{2+}$  결합부위로 격리시키는 수단들을 열거할 수 있다. 유문동 윤상근의 경우 위저부 중주근에 비하여

SR 발달이 좋고, active Ca-pump의 존재를 뒷받침해주는 실험보고가 있다(Kuriyama et al, 1975).

개의 위조직에서 위저부, 위체부 및 유문동 부위의 윤상근에서 얻은 전압-장력 관계를 보면(Szurszewski, 1987), mechanical threshold가 위저부, 위체 및 유문동에서 각각 -52, -55 및 -45 mV 이었고, 안정 막전압은 각각 -50, -60 및 -70 mV이었다. 그러므로 위저부의 경우 안정 막전압이 오히려 mechanical threshold 보다 낮은 막전압을 나타내고 있으므로 막전압-장력 곡선중 안정 막전압은 가파른 부위에 놓여 있게 되어 약간의 막전압의 변화로서 큰 장력의 변화가 유발될 수 있고 안정시에도 일정한 크기의 기초 장력을 유지하고 있음을 알 수 있다. 그러나 본 실험의 결과중(Fig. 11,12) 위저부와 유문동 부위의 긴장성 수축성분에 대한 mechanical threshold에 대한 실험결과가 빠져 있어 canine stomach의 결과와 비교가 불가능하나 이 부분은 좀더 실험을 하여 추가되어야 할 중요한 문제로 생각된다.

## 결 론

위운동의 부위별 차이가 발생하는 기전의 일단을 밝혀보고자 기니피그 위에서 위저부(fundus)와 유문동(antrum) 부위를 분리적출하여 위저부에서는 종주근 절편을, 유문동에서는 윤상근 절편을 만들어 두 부위에서 평활근 조직의 수축반응의 특성을 비교분석하였다.

수축유발은 세포의 K 농도를 변화시켜 K-경축을 일으켰다. 막전압과 수축반응을 동시에 기록하는 경우에는 전통적인 미세전극법이나 단일 슈크로즈-간극법을 사용하였고, 모든 실험은 35°C에서 100% O<sub>2</sub>와 평형을 이루고 있는 tris-완충 Tyrode 용액에서 시행하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1) 안정 막전압은 유문동 윤상근과 위저부 종주근에서 각각 -60~-65 mV 및 -50~-56 mV로서 유문동 윤상근이 10 mV 정도 큰 안정 막전압을 보였다.

2) 유문동 윤상근 세포에서 세포의 K 농도를 4 mM에서 10, 20, 40, 60, 100 및 150 mM로 증가시키는데 따른 탈분극 정도는 안정 막전압  $-62.3 \pm 2.1$

(mean±S.D.)로부터 각각  $-52.2 \pm 2.0$ ,  $-45.8 \pm 3.5$ ,  $-30.6 \pm 1.4$ ,  $-22.8 \pm 1.9$ ,  $-14.2 \pm 1.9$ ,  $-6 \pm 2.4$  mV이었다.

3) 위저부 종주근 세포에서는 세포의 K 농도를 4 mM에서 10, 20, 40, 60, 100 및 150 mM로 높임에 따라 막전압이 안정 막전압  $-55.0 \pm 1.04$ 로부터 각각  $-45.5 \pm 0.99$ ,  $-41.5 \pm 1.15$ ,  $-28.4 \pm 1.04$ ,  $-18.8 \pm 0.72$ ,  $-9.4 \pm 0.35$ ,  $-4.3 \pm 0.54$  mV이었다.

4) K-경축을 일으키는 역치농도(threshold concentration)는 유문동 윤상근에서 15 mM K(막전압 -48 mV), 위저부 종주근에서는 20 mM K이었다.

5) 세포막의 K<sup>+</sup>과 Na<sup>+</sup> 투과성 비율(P<sub>Na</sub>/P<sub>K</sub>)를 비교하면 유문동 윤상근에서는 0.065인데 반하여, 위저부 종주근에서는 0.108이었다.

6) K-경축곡선의 위상성 성분과 긴장성 성분은 세포의 K 농도변화에 따라 수축반응의 크기가 달랐다. 즉 위상성 수축성분은 K 농도 증가에 따라 S자상으로 크기가 증가하였으나, 긴장성 수축 성분은 40 mM K를 정점으로 이보다 K 농도가 증가 혹은 감소하더라도 모두 크기가 감소되었다.

7) K-경축의 긴장성 수축성분 크기와 세포의 K 농도는 40~50 mM K 농도범위에서 역비례 관계가 있는데, 유문동 윤상근의 역비례 관계가 보다 예민하여 용량-반응 곡선의 경사도가 더 급하였다.

8) K-경축에서 긴장성 수축성분은 세포의 Ca<sup>2+</sup>과 verapamil에 의하여 매우 예민하게 영향을 받았으나, 위상성 수축성분은 큰 영향을 받지 않았다.

이상의 실험결과들을 종합하여 다음과 같은 결론을 내릴 수 있었다.

1) 기니피그 위 평활근에서 유발시킨 K-경축의 위상성 수축성분은 세포내에서의 Ca<sup>2+</sup> 동원과 Ca<sup>2+</sup> 유입에 의하여 발생되고, 긴장성 수축성분은 Ca<sup>2+</sup> 통로를 통한 Ca<sup>2+</sup> 유입에 의하여 발생 유지되었다.

2) 세포내 free Ca<sup>2+</sup> 농도를 낮추는 기전의 활성화는 위저부 종주근 보다 유문동 윤상근에서 더 높은 것으로 추측되었다.

3) 안정 막전압 형성에 미치는 Na<sup>+</sup> 기여도는 유문동 윤상근에서 보다 위저부 종주근에서 더욱 현저하였다.

## REFERENCES

- Andersson RGG & Djärvi L (1978). Tension and cyclic GMP changes in potassium depolarized rabbit colon muscle. *Acta Physiol Scand* 102, 410-419
- Anderson DK, Roth SA, Brace RA, Radawski D, Haddy FJ & Scott JB (1972). Effect of hypokalemia and hypomagnesemia produced by hemodialysis on vascular resistance in canine skeletal muscle. *Circ Res* 31, 165-175
- Axelsson J & Holmberg B (1971). Effects of K-free solution on tension development in the smooth muscle taenia coli from the guinea-pig. *Acta Physiol Scand* 82, 322-332
- Bohr DF (1973). Vascular smooth muscle updated. *Circ Res* 32, 665-672
- Bolton TB (1979). Mechanisms of action of transmitters and other substances on smooth muscle. *Physiol Rev* 59, 606-718
- Bonaccorsi A, Hermsmeyer K, Aprigliano O, Smith CB & Bohr DF (1977). Mechanism of potassium relaxation of arterial muscle. *Blood Vessels* 14, 261-271
- Burnstock G (1981). Neurotransmitters and trophic factors in the autonomic nervous system (review lecture). *J Physiol London* 313, 1-35
- Burnstock G (1986). The changing face of autonomic neurotransmission. *Acta Physiol Scand* 126, 67-91
- Casteels R, Kitamura K, Kuriyama H & Suzuki H (1977). Excitation-Contraction coupling in the smooth muscle cells of the rabbit main pulmonary artery. *J Physiol London* 271, 63-79
- Chujyo N & Holland WC (1963). Potassium-induced contracture and calcium exchange in the guinea-pig's taenia coli. *Am J Physiol* 205, 94-100
- Ebashi S (1976). Excitation-contraction coupling. *Ann Rev Physiol* 38, 293-313
- Imai S & Takeda K (1967). Actions of calcium and certain multivalent cations on potassium contracture of guinea-pig's taenia coli. *J Physiol London* 190, 155-169
- Johnishi J & Sunano S (1978). The role of membrane electrical activities and extracellular calcium in high K-induced contracture of guinea-pig ureter. *Jap J Physiol* 28, 1-16
- Komori K & Suzuki H (1986). Distribution and properties of excitatory and inhibitory junction potentials in circular muscle of the guinea-pig stomach. *J Physiol London* 370, 339-355
- Kuriyama H, Mishima K & Suzuki H (1975). Some difference in contractile responses of isolated longitudinal and circular muscle from the guinea-pig stomach. *J Physiol London* 251, 317-331
- Meyer JH (1987). Motility of the stomach and gastroduodenal junction. In: Johnson LR, Christensen J, Jackson MJ, Jacobson ED & Walsh JH. (ed) *Physiology of the Gastrointestinal Tract*. Raven Press, New York, p 613-629
- Norton JM & Detar R (1972). Potassium and isolated coronary vascular smooth muscle. *Am J Physiol* 222, 474-479
- Suzuki H, Morita K & Kuriyama H (1976). Innervation and properties of the smooth muscle of the dog trachea. *Jap J Physiol* 26, 303-320
- Szurszewski JH (1987). Electrical basis for gastrointestinal motility. In: Johnson LR, Christensen J, Jackson MJ, Jacobson & Walsh SH. (ed) *Physiology of the Gastrointestinal Tract*. Raven Press, New York, p 383-422
- Urakawa N & Holland WC (1964). Ca<sup>45</sup> uptake and tissue calcium in K-induced phasic and tonic contraction in taenia coli. *Am J Physiol* 207, 873-876
- Wahlström B (1971). Effects of changes in the ionic environment on venous smooth muscle distribution of sodium and potassium. *Acta Physiol Scand* 82, 382-392