

# 가토 신동맥 평활근에서 Strontium의 Calcium 대행역할

충남대학교 의과대학 생리학교실

장 윤 철 · 전 병 화 · 장 석 종

(1990년 10월 20일 접수)

= Abstract =

## Ca<sup>2+</sup>-Substitutional Roles of Strontium for the Contractile Processes in the Rabbit Renal Artery

Yun Cheol Chang, Byeong Hwa Jeon and Seok Jong Chang

*Department of Physiology, College of Medicine, Chungnam National University, Taejeon, Korea*

The Ca<sup>2+</sup>-substitutional roles of strontium for the contractile processes were investigated in the rabbit renal artery. The contractions induced by either norepinephrine or high K<sup>+</sup> in the condition which intra- and extracellular Ca<sup>2+</sup> were replaced by Sr<sup>2+</sup>, i.e. Sr<sup>2+</sup>-mediated contractions, were dose-dependent. And then the maximal amplitude of contraction, as compared with Ca<sup>2+</sup>-mediated contraction, was about 50% in norepinephrine and about 70% in high K<sup>+</sup>. The Sr<sup>2+</sup>-mediated contractions were independent in the contraction by norepinephrine (10<sup>-5</sup>M) but dependent in those by high K<sup>+</sup> (100 mM) on the extracellular Sr<sup>2+</sup> concentration. Also Sr<sup>2+</sup>-mediated contractions induced by norepinephrine were observed in the Sr<sup>2+</sup>-free Tyrode's solution.

The Sr<sup>2+</sup>-mediated contractions induced by either norepinephrine or high K<sup>+</sup> were suppressed by verapamil, a Ca<sup>2+</sup>-channel blocker. By extracellular addition of Sr<sup>2+</sup>, the Ca<sup>2+</sup>-mediated contractions induced by norepinephrine (10<sup>-5</sup>M) or 40 mM K<sup>+</sup> were inhibited but those by high K<sup>+</sup> (100 mM) were increased. And the Sr<sup>2+</sup>-mediated contractions were increased by extracellular addition of Ca<sup>2+</sup> but did not reach the level of Ca<sup>2+</sup>-mediated contraction.

Therefore it is suggested that in the vascular smooth muscle of rabbit renal artery Sr<sup>2+</sup> could enter the smooth muscle cells easily through the potential-operated calcium channel (POC) but not easily through the receptor-operated calcium channel (ROC), and Sr<sup>2+</sup> might be stored in the intracellular Ca<sup>2+</sup>-binding site and released by NE and induced the contraction by a way of activating directly the contractile apparatus.

**Key Words:** Strontium, Calcium, Arterial contraction, Norepinephrine, High-potassium

### 서 론

근세포의 종류에 관계없이 Ca<sup>2+</sup>은 수축기구를 활성화하여 근 수축을 조절하며 Sr<sup>2+</sup>은 근수축과정에서 있어 이러한 Ca<sup>2+</sup>의 작용을 대행할 수 있음이 골격근, 심장근 및 평활근에서 밝혀지고 있다.

일찌기 Heibrunn과 Wiercinski(1947)는 골격근의 근세포내에 Sr<sup>2+</sup>을 주입(microinjection)할 때 수축이 일어남을 확인하였으며 Edward등(1966)은 Sr<sup>2+</sup>이 microsomal fraction, 특히 근장크물에 Ca<sup>2+</sup>보다 효율적이지 못하지만 저장 가능하다고 하였다. 또한 평활근에서도 Sr<sup>2+</sup>은 세포내의 Ca<sup>2+</sup>이 결합되는 장소에 결합할 수 있음이 알려져 있다

(Somlyo & Somlyo, 1971; Arjamaa, 1982; Yasuda & Sakai, 1984; Uhrík & Zacharova, 1988).

Inomata와 Kao(1979)는 평활근에서  $Sr^{2+}$ 은  $Ca^{2+}$ 이 통과하는  $Ca^{2+}$  통로를 통하여 세포내로 들어갈 수 있다고 하였으며 Hagiwara(1983)는 골격근과 심근에서  $Sr^{2+}$ 은 막전압 작동성  $Ca^{2+}$  통로(potential-operated calcium channel, POC)를 통하여 잘 이동될 수 있고 투과도도  $Ca^{2+}$ 과 비슷하지만 수용체 작동성  $Ca^{2+}$  통로(Receptor-operated calcium channel, ROC)는 잘 통과하지 못한다고 보고하였는데 이같은 사실은 Cognard와 Raymond(1985), Karaki등(1986)에 의해서도 보고된 바 있다. 반면에 Hagiwara등(1974)은 조개 사탕근에서는  $Sr^{2+}$ 이 오히려  $Ca^{2+}$ 보다 막투과도가 크다고 보고하였다.

Cognard와 Raymond(1985)는 심근과 골격근에서 수축용액의  $Ca^{2+}$ 을  $Sr^{2+}$ 으로 치환한 경우 일어나는 수축은  $Sr^{2+}$ 이 오히려  $Ca^{2+}$ 에 비하여 수축기구에 대한 친화성이 작고  $Ca^{2+}$ -pump의 작용 때문에 세포외에서 유입되는  $Sr^{2+}$ 은 수축을 일으킬 수 있는 농도에 도달하지 못하여  $Sr^{2+}$ 의 유입 자체만으로는 수축이 일어나지 못하는 바,  $Sr^{2+}$ 이 저장  $Ca^{2+}$ 을 유리시키는 소위  $Sr^{2+}$ -induced  $Ca^{2+}$  release 기전을 통하여 수축을 일으킨다고 하였다. 또한 Yasuda와 Sakai(1984)도 평활근에서  $Sr^{2+}$ 에 의한 수축이  $Sr^{2+}$ -induced  $Ca^{2+}$  release 기전을 통하여 일어난다고 하였다. 그러나  $Sr^{2+}$ 이 직접 세포내의 수축기구를 활성화하여 수축을 일으킨다는 보고들(Uvelius et al, 1974; Taniyama et al, 1977; Hai & Murphy, 1988)도 있다.

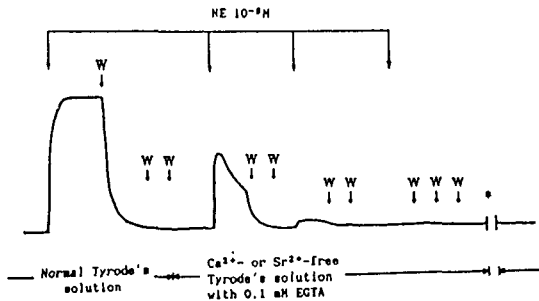
$Sr^{2+}$ 수축용액에서 평활근의 수축은  $Ca^{2+}$ 수축용액에서의 수축에 비해 작게 일어나는데 이는  $Sr^{2+}$ 이  $Ca^{2+}$ 에 비하여 수축기구와의 친화도가 작기 때문이라는 보고가 많다. 즉 평활근에서  $Sr^{2+}$ 도 myosin의 인산화를 통하여 수축을 일으키는 것으로 생각되며  $Sr^{2+}$ 이  $Ca^{2+}$ -calmodulin 의존성 효소인 MLCK(myosin light chain kinase)를 활성화시키는 정도는  $Ca^{2+}$ 보다 약 40배 작으며 (Hoar et al, 1979; Kamm & Stull, 1985; Hai & Murphy, 1988), 토끼와 쥐의 대동맥 그리고 Guinea-pig 결장뉴의 skinned fiber에서  $Sr^{2+}$ 과  $Ca^{2+}$ 으로 수축을 일으켜 친화도를 비교한 결과에서도  $Sr^{2+}$ 은  $Ca^{2+}$ 에 비하여 수축

기구와의 친화성이 20~60배 낮다고 보고된 바 있다 (Karaki et al, 1986).

이상에서와 같이 혈관을 포함한 평활근에서 수축 물질이나 고농도  $K^+$ 에 의한 탈분극으로 수축을 일으킬 때  $Sr^{2+}$ 은  $Ca^{2+}$  통로를 통하여 세포내로 유입되어 수축을 일으키는 잘 알려진 바이나 그 기전과  $Sr^{2+}$ 의  $Ca^{2+}$  역할 대행의 정도는 연구자들 및 평활근의 종류에 따라 각각 다르다. 따라서 저자는 신동맥 평활근에서 수축을 유발시킬 수 없는 수준까지 세포내  $Ca^{2+}$ 을 norepinephrine(NE)으로 고갈시키고(Deth & van Breemen, 1974)  $Sr^{2+}$ 으로 치환시킨 세포와 정상세포에서 이들 세포의 NE 또는 고농도  $K^+$ 에 대한 수축특성을 비교 연구함으로써  $Sr^{2+}$ 의 신동맥 평활근에서 작용기전과  $Ca^{2+}$ 의 대행 역할 정도를 밝히고자 하였으며 아울러 두 이온들의 상호보완성을 검토하고자 본 연구를 시도하였다.

## 실 험 방 법

체중 2.0 Kg 내외의 뉴질랜드산 백색 토끼(New Zealand white)를 암수 구별없이 사용하였다. 토끼의 흥분으로 인한 아드레날린의 분비를 가능한 한 줄이기 위하여 후두부를 순간적으로 강타하여 즉시 케한 후 즉시 총경동맥을 절단하여 실험시켰다. 개복하여 신동맥을 적출한 후 100% 산소로 평형을 이룬 tris-완충 Tyrode용액(NaCl; 158, KCl; 4,  $CaCl_2$ ; 2,  $MgCl_2$ ; 1, Tris; 5, Glucose; 6 mM, pH; 7.35)이 들어 있는 준비용기 내에서 혈관 주위 조직을 깨끗이 박리하고 실온에서 1 시간동안 산소를 공급하면서 회복시켰다. 혈관 절제용 유리막대 끝에 혈관의 한쪽 끝을 고정하고 돌리면서 45도 방향으로 나비 2 mm, 길이 10 mm 되게 안과 수술용 가위로 잘라 절편을 만들었다. 근육고정기에 절편 양끝을 이완상태에서 실로 고정한 후 37°C에서 100% 산소로 평형을 이룬 tris-완충 Tyrode 용액이 들어 있는 실험용기(용량 100 ml)에 옮겼다. 근육 고정기의 유리선을 장력변환시(F-60, Narco Biosystem)에 연결하고 20분 간격으로 새로운 용액을 갈아 주면서 1 시간동안 회복시켰다. 이상의 처리가 끝난 후 견인기로써 혈관절편은 길이의 10%씩 단계적으로 늘이면서 길이-장력 관계를 관찰하고 최적길이를 결정



**Fig. 1.** Replacement of intracellular  $\text{Ca}^{2+}$  by  $\text{Sr}^{2+}$ ; depletion of intracellular  $\text{Ca}^{2+}$  with NE and refilling of  $\text{Sr}^{2+}$ .  
\* : 1 hour incubation in the  $\text{Sr}^{2+}$  (9 mM) Tyrode's solution after depletion of intracellular  $\text{Ca}^{2+}$  with NE  
W : Washing

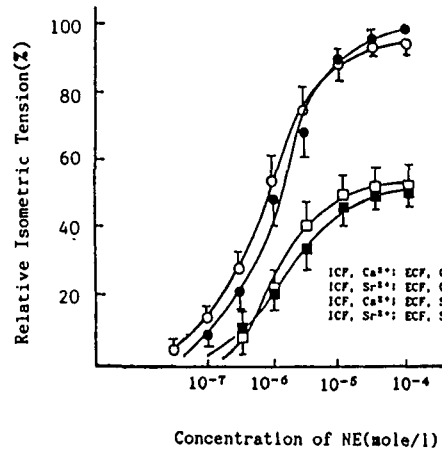
하였다. 실험용기는 항온순환기로서 물을 순환시켜  $37^{\circ}\text{C}$ 를 유지하게 하였으며, 장력의 기록은 장력변환기 및 피지오그래프(MK-IV, Narco Biosystem)를 이용하였다(Chang et al, 1990).

고농도  $\text{K}^{+}$ -수축용액으로는 등장성을 유지하기 위하여 정상 Tyrode용액의  $\text{Na}^{+}$ 을 줄여 62(또는 122) mM로 하고  $\text{K}^{+}$ 을 높여 만든 100(또는 40) mM로 만든 고농도  $\text{K}^{+}$ -Tyrode 용액을 사용하였다. 세포내의  $\text{Ca}^{2+}$ 을  $\text{Sr}^{2+}$ 으로 대체시키는 방법으로는 세포외에  $\text{Ca}^{2+}$ 이 없는  $\text{Ca}^{2+}$ -free Tyrode 용액에서 혈관의 세포내  $\text{Ca}^{2+}$ 을 고갈시키는 물질로 알려진(Deth & van Breemen, 1974)  $\text{NE}(10^{-5}\text{M})$ 을 반복 투여하여 수축이 일어나지 않는 것을 확인하고  $\text{Sr}^{2+}$  9 mM을 첨가 한 후 1 시간동안 incubation시켰다.(Hai & Murphy, 1988)(Fig. 1). 모든 실험은 약물 투여가 끝난 후 3회 이상 세척하여 혈관절편이 이전 실험으로부터 회복되었음을 확인한 후 다음 실험을 진행하였으며  $\text{Ca}^{2+}$ -free Tyrode 용액은 잔존  $\text{Ca}^{2+}$ 을 제거하기 위하여 0.1 mM EGTA를 첨가하여 사용하였다.

### 실험 성적

가토 신동맥 평활근을 이용하여  $\text{Sr}^{2+}$  동원에 의하여 일어나는 수축의 NE농도-의존성을  $\text{Ca}^{2+}$ 의 성적

Rabbit Renal Artery  
ECF;  $\text{Ca}^{2+}$ , 2mM  
or  $\text{Sr}^{2+}$ , 9mM

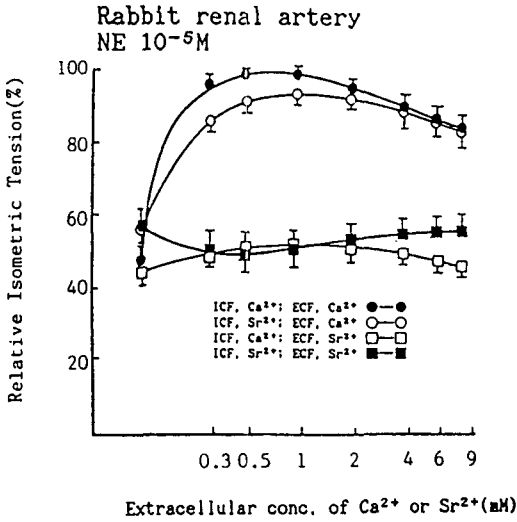


**Fig. 2.** Dose-response curves of norepinephrine (NE) in the  $\text{Ca}^{2+}$  (2 mM) or  $\text{Sr}^{2+}$  (9 mM)-Tyrode's solution. Ordinate: Percentage of maximal tension by NE ( $\text{Ca}^{2+}$  2 mM). Each point shows the mean ( $n=5$ ) and vertical line is S.E..

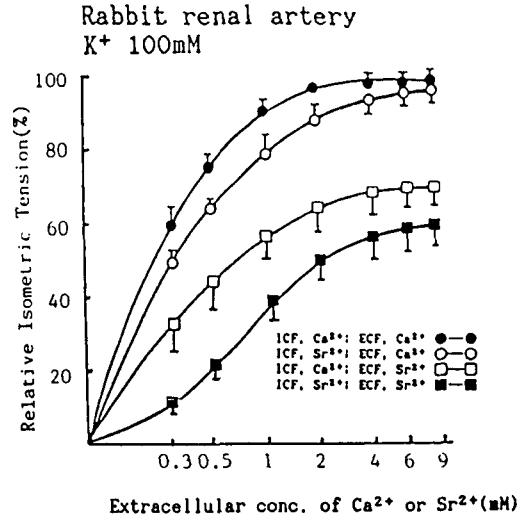
과 비교하였다(Fig. 2). Fig. 2에서 보는 바와 같이 세포외에  $\text{Ca}^{2+}$ 이 있는 경우나  $\text{Sr}^{2+}$ 이 있는 경우 양자 모두에서 수축은 NE농도-의존적으로 증가하여  $10^{-5}\text{M} \sim 10^{-4}\text{M}$ 에서 최대수축을 보였으며 세포외  $\text{Sr}^{2+}$ 이 있는 경우  $\text{Ca}^{2+}$ 이 있는 경우에 비하여 수축은 약 50% 정도를 나타냈다.

Fig. 2의 NE에 의한 수축이 세포외에  $\text{Sr}^{2+}$ 이 있는 경우  $\text{Ca}^{2+}$ 이 있는 경우보다 작아지는 이유를 알아보기 위하여  $\text{NE}(10^{-5}\text{M})$ 으로 수축을 일으킬 때 수축에 미치는 세포외의  $\text{Ca}^{2+}$  또는  $\text{Sr}^{2+}$  농도-의존성을 검토하였다(Fig. 3). Fig. 3에서 보는 바와 같이 NE에 의한 수축은 세포외에  $\text{Ca}^{2+}$ 이 있을 때 정상세포의 경우나 세포내  $\text{Ca}^{2+}$ 이  $\text{Sr}^{2+}$ 으로 대체된 세포의 경우, 양자 모두에서 수축은 세포외의  $\text{Ca}^{2+}$  농도-의존적으로 증가하여 1 mM  $\text{Ca}^{2+}$  부근에서 최대수축을 보였다. 그러나 세포외  $\text{Sr}^{2+}$ 이 있는 경우는 농도-의존성이 미약하여 세포외의  $\text{Sr}^{2+}$ 의 농도증가에 따라 수축이 크게 증가하지 않았으며 수축의 크기는 세포외  $\text{Ca}^{2+}$ 이 있을 때의 약 50% 정도를 나타냈다.

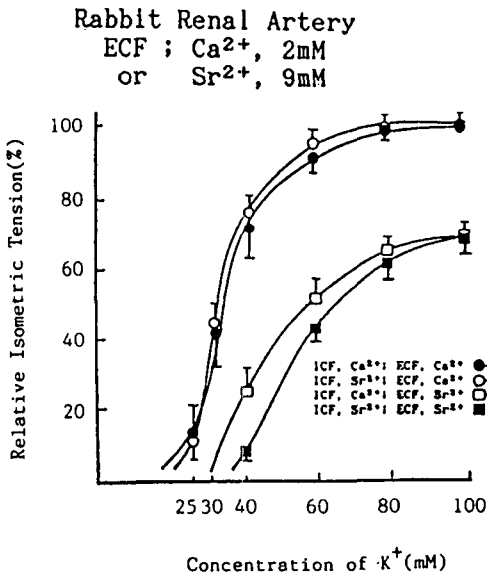
$\text{Sr}^{2+}$ 동원에 의하여 일어나는 수축의  $\text{K}^{+}$  농도-의존성을  $\text{Ca}^{2+}$ 의 성적과 비교하였다(Fig. 4). Fig. 4에



**Fig. 3.** Dose-response curves of  $\text{Ca}^{2+}$  and  $\text{Sr}^{2+}$  in NE ( $10^{-5}\text{M}$ )-containing Tyrode's solution. After the contractions were induced by NE in the  $\text{Ca}^{2+}$  or  $\text{Sr}^{2+}$ -free Tyrode's solution,  $\text{Ca}^{2+}$  or  $\text{Sr}^{2+}$  was added cummulative. Ordinate: Percentage of maximal tension by NE ( $\text{Ca}^{2+}$  2 mM). Each point shows the mean ( $n=5$ ) and vertical line is S.E..



**Fig. 5.** Dose-response curves of  $\text{Ca}^{2+}$  and  $\text{Sr}^{2+}$  in the 100 mM  $\text{K}^{+}$ -Tyrode's solution.  $\text{Ca}^{2+}$  or  $\text{Sr}^{2+}$  was added cummulative. Ordinate: Percentage of maximal tension by 100 mM  $\text{K}^{+}$  ( $\text{Ca}^{2+}$  2 mM). Each point shows the mean ( $n=5$ ) and vertical line is S.E..

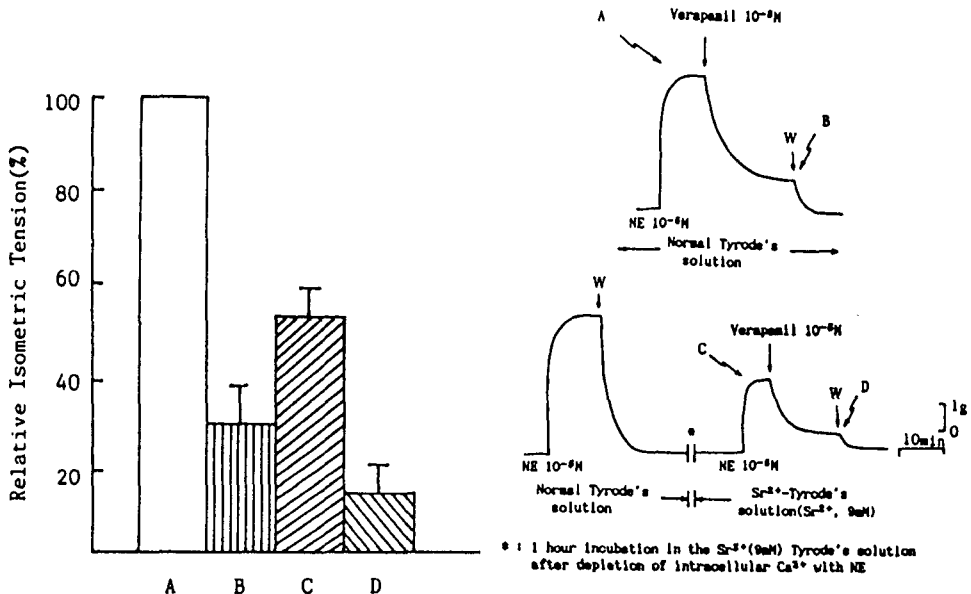


**Fig. 4.** Dose-response curves of  $\text{K}^{+}$  in the  $\text{Ca}^{2+}$  (2 mM) or  $\text{Sr}^{2+}$  (9 mM)-Tyrode's solution. Ordinate: Percentage of maximal tension by 100 mM  $\text{K}^{+}$  ( $\text{Ca}^{2+}$  2 mM). Each point shows the mean ( $n=5$ ) and vertical line is S.E..

서 보는 바와 같이 세포외에  $\text{Ca}^{2+}$ 이 있는 경우나  $\text{Sr}^{2+}$ 이 있는 경우 양자 모두에서 수축은  $\text{K}^{+}$  농도-의존적으로 증가하여 80 mM~100 mM에서 최대수축에 도달하였다. 그러나 세포외에  $\text{Sr}^{2+}$ 이 있는 경우 최대수축은 세포외에  $\text{Ca}^{2+}$ 이 있는 경우에 비하여 약 70% 정도를 나타냈다.

Fig. 4의  $\text{K}^{+}$ 에 의한 수축이 세포외에  $\text{Sr}^{2+}$ 이 있는 경우  $\text{Ca}^{2+}$ 이 있는 경우보다 작아지는 이유를 알아보기 위하여 100 mM  $\text{K}^{+}$ 으로 수축을 일으킬 때 수축에 미치는 세포의  $\text{Ca}^{2+}$  또는  $\text{Sr}^{2+}$ 의 의존성을 검토하였다(Fig. 5). Fig. 5에서 보는 바와 같이 100 mM  $\text{K}^{+}$ 에 의한 수축에서 정상세포의 경우나 세포내  $\text{Ca}^{2+}$ 이  $\text{Sr}^{2+}$ 으로 대체된 세포의 경우, 양자 모두에서 수축은 세포의  $\text{Ca}^{2+}$  또는  $\text{Sr}^{2+}$  농도-의존적으로 증가하여  $\text{Ca}^{2+}$ 의 경우 2 mM에서  $\text{Sr}^{2+}$ 의 경우 9 mM에서 최대수축에 도달하였다.

NE에 의한 수축에서  $\text{Sr}^{2+}$ 의 세포내로의 유입과 세포내 저장소로부터의 유리가  $\text{Ca}^{2+}$  길항제인 verapamil에 의하여 억제되는 정도를  $\text{Ca}^{2+}$ 이 verapamil에 의하여 억제되는 정도와 비교하였다(Fig. 6). Fig. 6에서 보는 바와 같이 정상 Tyrode 용액



**Fig. 6.** Effects of verapamil on the contraction by NE in the normal and Sr<sup>2+</sup> (9 mM)-Tyrode's solution. Ordinate: Percentage of maximal tension by NE (Ca<sup>2+</sup> 2 mM). Each bar shows the mean (n=5) and vertical line is S. E.. The lower traces show the sequential responses of the contraction.

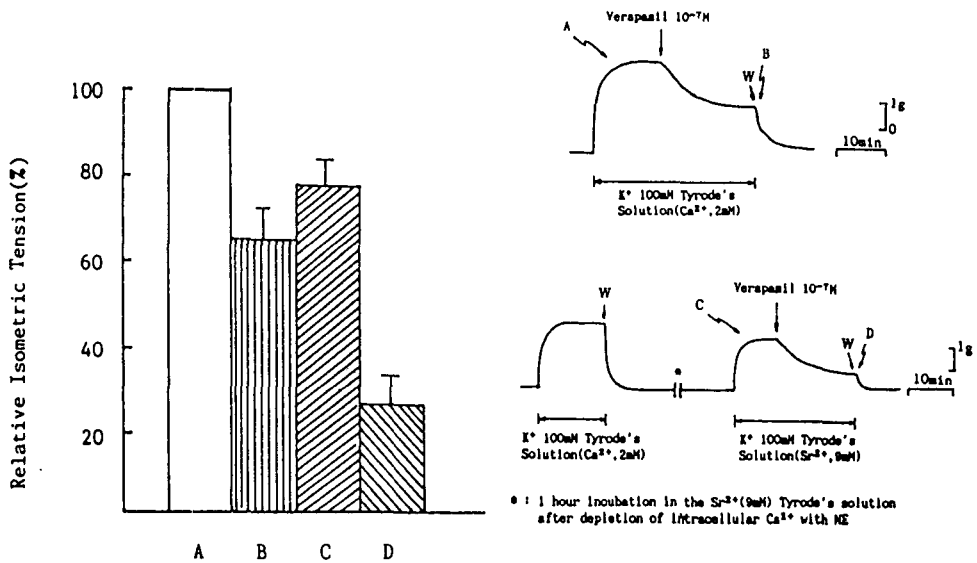
- A : NE 10<sup>-5</sup>M, [Ca<sup>2+</sup>]<sub>0</sub> : 2 mM
- B : NE 10<sup>-5</sup>M, [Ca<sup>2+</sup>]<sub>0</sub> : 2 mM + Verapamil 10<sup>-5</sup>M
- C : NE 10<sup>-5</sup>M, [Sr<sup>2+</sup>]<sub>0</sub> : 9 mM
- D : NE 10<sup>-5</sup>M, [Sr<sup>2+</sup>]<sub>0</sub> : 9 mM + Verapamil 10<sup>-5</sup>M
- W : Washing

(Ca<sup>2+</sup> 2 mM)에서 NE(10<sup>-5</sup>M)에 의하여 유발된 수축(A)은 verapamil(10<sup>-5</sup>M)에 의하여 억제되어 정상 Tyrode 용액에서의 수축(A)의 27.8±7.5%이었다. 세포내외가 Sr<sup>2+</sup>으로 치환된 경우 NE(10<sup>-5</sup>M)에 의한 수축(C)은 verapamil(10<sup>-5</sup>M)에 의하여 억제되어(D)Sr<sup>2+</sup>-Tyrode 용액에서 수축의 24.0±4.1% (정상 Tyrode 용액에서의 수축(A)에 비하여는 14.1±4.1%)이었는데 이는 앞서 NE(10<sup>-5</sup>M)에 의한 수축이 정상 Tyrode 용액(Ca<sup>2+</sup> 2 mM)에서 verapamil에 의해 억제되는 정도와 비슷한 것이었다.

100 mM K<sup>+</sup>에 의한 수축에서 Sr<sup>2+</sup>의 세포내로의 유입과 세포내 저장소로부터의 유리가 Ca<sup>2+</sup> 길항제인 verapamil에 의하여 억제되는 정도를 Ca<sup>2+</sup>이 verapamil에 의하여 억제되는 정도와 비교하였다(Fig. 7). Fig. 7에서 보는 바와 같이 정상 Tyrode 용액(Ca<sup>2+</sup> 2 mM)에서 100 mM K<sup>+</sup>에 의하여 유발된 수축(A)은 verapamil(10<sup>-7</sup>M)에 의하여 억제되어

정상 Tyrode 용액에서의 수축(A)의 62.7±4.7%이었다. 세포내외가 Sr<sup>2+</sup>으로 치환된 경우 100 mM K<sup>+</sup>에 의한 수축(C)은 verapamil(10<sup>-7</sup>M)에 의하여 억제되어(D) Sr<sup>2+</sup>-Tyrode 용액에서 수축의 31.4±3.8%(정상 Tyrode 용액에서의 수축(A)에 비하여는 24.3±3.8%)이었는데 이는 앞서 정상 Tyrode 용액(Ca<sup>2+</sup> 2 mM)에서 100 mM K<sup>+</sup>에 의한 수축이 verapamil에 의해 억제되는 정도보다 더 큰 것이었다.

세포외액의 Sr<sup>2+</sup>이 Ca<sup>2+</sup>을 이용하여 일어난 수축에 미치는 효과를 알아보기 위하여 정상 Tyrode 용액에서 NE, 100 또는 40 mM K<sup>+</sup>로 수축시킨 후 부가적으로 세포외액에 Sr<sup>2+</sup>을 투여하였다(Fig. 8). Fig. 8에 보는 바와 같이 정상 Tyrode 용액(Ca<sup>2+</sup> 2 mM)에서 NE(10<sup>-5</sup>M)에 의하여 유발된 수축은 세포외액의 Sr<sup>2+</sup>에 의해 수축이 억제되어 Sr<sup>2+</sup> 9 mM에서 최대가 되었는데 이때 수축은 정상 Tyrode 용



**Fig. 7.** Effects of verapamil on the 100 mM  $K^+$ -induced contraction in the normal and  $Sr^{2+}$  (9 mM)-Tyrode's solution. Ordinate: Percentage of maximal tension by 100 mM  $K^+$  ( $Ca^{2+}$  2 mM). Each bar shows the mean ( $n=5$ ) and vertical line is S.E.. The lower traces show the sequential responses of the contraction.

- A : 100 mM  $K^+$ ,  $[Ca^{2+}]_0$  : 2 mM
- B : 100 mM  $K^+$ ,  $[Ca^{2+}]_0$  : 2 mM + Verapamil  $10^{-7}M$
- C : 100 mM  $K^+$ ,  $[Sr^{2+}]_0$  : 9 mM
- D : 100 mM  $K^+$ ,  $[Sr^{2+}]_0$  : 9 mM + Verapamil  $10^{-7}M$
- W : Washing

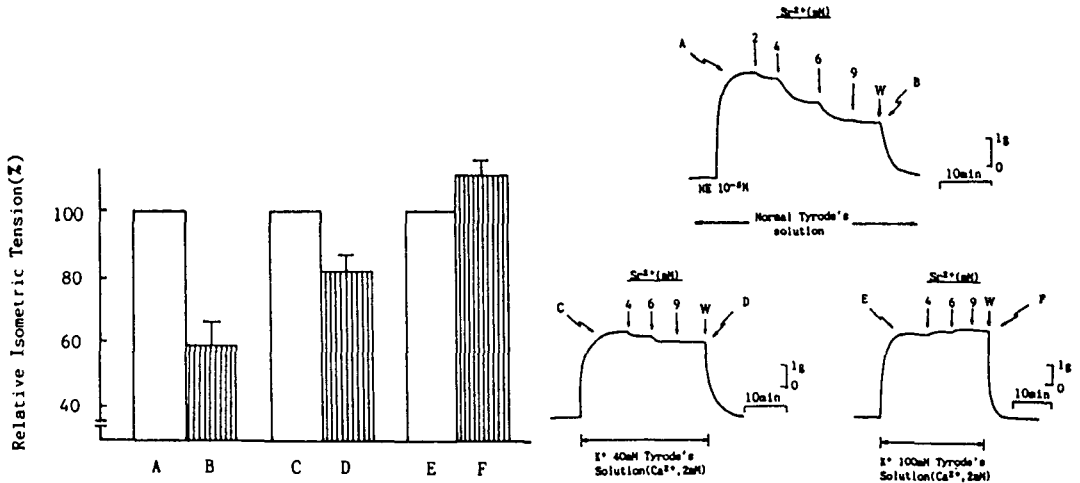
액에서 수축(A)의  $58.4 \pm 3.2\%$ 이었다(B). 또한 40 mM  $K^+$ 에 의하여 유발된 수축(C)도 세포외액의  $Sr^{2+}$ 에 의해 억제되어  $Sr^{2+}$  9mM에서 최대가 되었는데 이때 수축은 정상 Tyrode 용액에서 수축(C)의  $81.6 \pm 7.8\%$ 이었다(D). 그러나 100 mM  $K^+$ 에 의하여 유발된 수축(E)은 세포외액의  $Sr^{2+}$ 에 의해 수축이 증가되어  $Sr^{2+}$  9mM에서 최대가 되었는데 이때 수축은 정상 Tyrode 용액에서 수축(E)의  $108.3 \pm 3.7\%$ 이었다(F).

$Sr^{2+}$ 으로 이루어진 수축에  $Ca^{2+}$ 이 보완적으로 이용될 수 있는지를 알아보기 위하여  $Sr^{2+}$ -Tyrode 용액에서 NE( $10^{-8}M$ )로 수축시키고 부가적으로 세포외액에  $Ca^{2+}$  (2 mM)을 투여하였다(Fig. 9). Fig. 9에서 보는 바와 같이  $Sr^{2+}$ -Tyrode 용액에서 NE에 의한 수축(B)은 정상 Tyrode 용액에서 수축의  $56.5 \pm 4.3\%$ 이었으며  $Ca^{2+}$  (2 mM)의 투여에 의하여 수축은 증가하여 정상 Tyrode 용액에서 수축(A)의  $69.6 \pm 7.3\%$ 를 나타내었다(C).

또한  $Sr^{2+}$ 으로 이루어진 수축에  $Ca^{2+}$ 이 보완적으로 이용될 수 있는지를 알아보기 위하여 세포외액의  $Ca^{2+}$ 을  $Sr^{2+}$ 으로 바꾼 다음 100 mM  $K^+$ 로 수축시키고 부가적으로 세포외액에  $Ca^{2+}$  (2 mM)을 투여하였다(Fig. 10). Fig. 10에 도시된 바와 같이  $Sr^{2+}$ -Tyrode 용액에서 100 mM  $K^+$ 에 의한 수축(B)은 정상 Tyrode 용액에서 수축의  $60.4 \pm 4.1\%$ 이었으며  $Ca^{2+}$  (2 mM)의 투여에 의하여 수축은 증가하여 정상 Tyrode 용액에서 수축(A)의  $76.0 \pm 3.8\%$ 를 나타내었다(C).

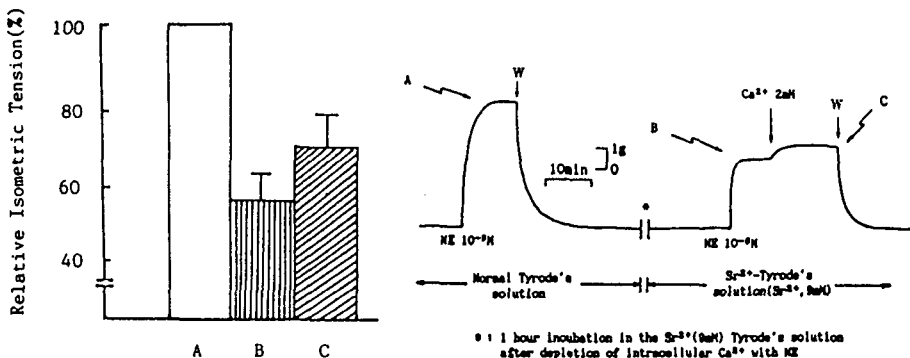
## 고 찰

평활근은 종류나 그 생리학적 특성이 매우 다양하고 수축을 일으키는 기전이 골격근과 심장근에 비하여 많이 알려져 있지 않으나  $Ca^{2+}$ 이 수축기구를 활성화하여 수축을 조절한다는 것은 주지의 사실로서 이러한  $Ca^{2+}$ 의 역할은 같은 2가 양이온인  $Sr^{2+}$ 에 의



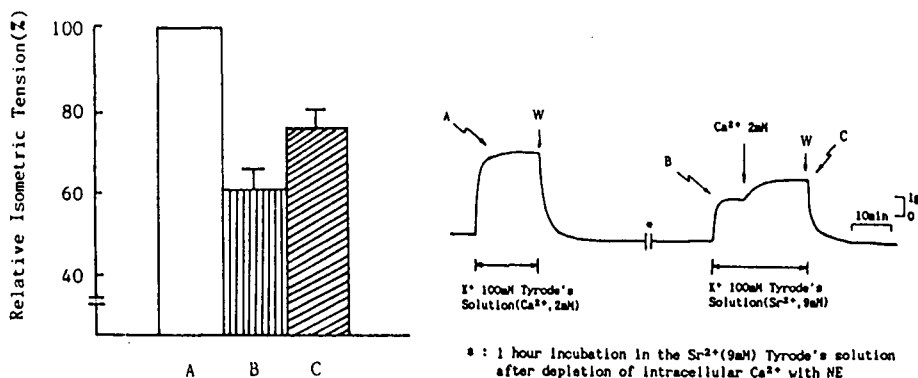
**Fig. 8.** Effects of  $\text{Sr}^{2+}$  (9 mM) on the contraction by NE, 40 mM  $\text{K}^+$  and 100 mM  $\text{K}^+$  in the normal Tyrode's solution, Ordinate: Percentage of maximal tension by NE and 100 mM  $\text{K}^+$  ( $\text{Ca}^{2+}$  2 mM). Each bar shows the mean ( $n=5$ ) and vertical line is S.E.. The lower traces show the sequential responses of the contraction.

- A : NE ( $10^{-5}\text{M}$ ),  $[\text{Ca}^{2+}]_o$  : 2 mM
- B : NE ( $10^{-5}\text{M}$ ),  $[\text{Ca}^{2+}]_o$  : 2 mM +  $[\text{Sr}^{2+}]_o$  : 9 mM
- C : 40 mM  $\text{K}^+$ ,  $[\text{Ca}^{2+}]_o$  : 2 mM
- D : 40 mM  $\text{K}^+$ ,  $[\text{Ca}^{2+}]_o$  : 2 mM +  $[\text{Sr}^{2+}]_o$  : 9 mM
- E : 100 mM  $\text{K}^+$ ,  $[\text{Ca}^{2+}]_o$  : 2 mM
- F : 100 mM  $\text{K}^+$ ,  $[\text{Ca}^{2+}]_o$  : 2 mM +  $[\text{Sr}^{2+}]_o$  : 9 mM
- W : Washing



**Fig. 9.** Effects of  $\text{Ca}^{2+}$  on the contraction by NE in the  $\text{Sr}^{2+}$  (9 mM)-Tyrode's solution after intracellular  $\text{Ca}^{2+}$  was replaced by  $\text{Sr}^{2+}$ . Ordinate: Percentage of maximal tension by NE ( $\text{Ca}^{2+}$  2 mM). Each bar shows the mean ( $n=5$ ) and vertical line is S.E.. The lower traces show the sequential responses of the contraction.

- A : NE ( $10^{-5}\text{M}$ ),  $[\text{Ca}^{2+}]_o$  : 2 mM
- B : NE ( $10^{-5}\text{M}$ ),  $[\text{Sr}^{2+}]_o$  : 9 mM
- C : NE ( $10^{-5}\text{M}$ ),  $[\text{Sr}^{2+}]_o$  : 9 mM +  $[\text{Ca}^{2+}]_o$  : 2 mM
- W : Washing



**Fig. 10.** Effects of  $\text{Ca}^{2+}$  on the contraction by 100 mM  $\text{K}^+$  in the  $\text{Sr}^{2+}$  (9 mM)-Tyrode's solution after intracellular  $\text{Ca}^{2+}$  was replaced by  $\text{Sr}^{2+}$ . Ordinate: Percentage of maximal tension by 100 mM  $\text{K}^+$  ( $\text{Ca}^{2+}$  2 mM). Each bar shows the mean ( $n=5$ ) and vertical line is S.E.. The lower traces show the sequential responses of the contraction.

- A : 100 mM  $\text{K}^+$ ,  $[\text{Ca}^{2+}]_0$  : 2 mM
- B : 100 mM  $\text{K}^+$ ,  $[\text{Sr}^{2+}]_0$  : 9 mM
- C : 100 mM  $\text{K}^+$ ,  $[\text{Sr}^{2+}]_0$  : 9 mM +  $[\text{Ca}^{2+}]_0$  : 2 mM
- W : Washing

하여 대행될 수 있음이 여러 근육들에서 연구되어 왔다. 본 연구는 신동맥 평활근에서  $\text{Sr}^{2+}$ 의  $\text{Ca}^{2+}$ 대행 역할기전과 그 정도를 규명하고자 하였다. 신동맥 절편을 tris-완충 Tyrode 용액에서 혈관 평활근 내의  $\text{Ca}^{2+}$ 을  $\text{Sr}^{2+}$ 으로 치환시킨 세포와 정상세포를 세포외의  $\text{Ca}^{2+}$  또는  $\text{Sr}^{2+}$  농도를 바꾸면서 고농도  $\text{K}^+$  또는 NE로 수축을 일으키고 수축을 검토 분석하였다.

NE으로 신동맥 평활근을 수축시킬 때  $\text{Sr}^{2+}$ 에 의한 수축은  $\text{Ca}^{2+}$ 에 의한 수축에서와 마찬가지로 NE 농도-의존적이었다. 그러나 수축의 크기는 전자가 후자의 약 50% 정도를 나타냈다(Fig. 2). 이와 같이 세포외가  $\text{Sr}^{2+}$ 으로 치환된 경우 수축이 작아지는 이유를 규명하기 위하여  $10^{-5}\text{M}$  NE로서 수축시키고  $\text{Sr}^{2+}$  또는  $\text{Ca}^{2+}$  의존성을 검토한 결과 세포외에  $\text{Ca}^{2+}$ 이 있는 경우에는  $\text{Ca}^{2+}$ 의 농도-의존적으로 수축이 증가하였으나  $\text{Sr}^{2+}$ 이 있는 수축의 경우에는  $\text{Sr}^{2+}$  농도-의존성이 미약하였다(Fig. 3). 또한 Fig. 3에 도시된 바와 같이 세포내  $\text{Ca}^{2+}$ 이  $\text{Sr}^{2+}$ 으로 치환된 세포에서 세포외  $\text{Ca}^{2+}$  또는  $\text{Sr}^{2+}$ 이 없는 용액에서도 수축은 일어났다. 이와 같은 결과는 첫째 세포내의  $\text{Sr}^{2+}$ 은 저장될 수 있고, 둘째 저장된  $\text{Sr}^{2+}$ 은 NE에 의하여 유리되며, 셋째  $\text{Sr}^{2+}$ 은 신동맥 평활근

의 수축기구를 활성화하여 수축을 일으킬 수 있고, 넷째 NE에 의하여 개폐되는 ROC를 통하여  $\text{Sr}^{2+}$ 이 잘 이동되지 않으며 따라서 NE에 의한 수축에서 동원되는  $\text{Sr}^{2+}$ 은 주로 세포내에 저장소로부터 유리됨을 시사한다.

고농도  $\text{K}^+$ 으로 신동맥 평활근을 수축시킬 때  $\text{Sr}^{2+}$ 에 의한 수축은  $\text{Ca}^{2+}$ 에 의한 수축에서와 마찬가지로  $\text{K}^+$  농도-의존적이었다. 그러나 수축의 크기는 전자가 후자에 비하여 작았다(Fig. 4)(최대수축농도에서 전자는 후자의 약 70% 정도). 이와 같이 세포외에  $\text{Sr}^{2+}$ 으로 치환된 경우 수축이 작아지는 이유를 규명하기 위하여 100 mM  $\text{K}^+$ 으로서 수축시키고  $\text{Sr}^{2+}$  또는  $\text{Ca}^{2+}$  농도-의존성을 검토한 결과 세포밖에  $\text{Ca}^{2+}$ 이 있는 경우나  $\text{Sr}^{2+}$ 이 있는 경우 모두에서  $\text{Ca}^{2+}$  또는  $\text{Sr}^{2+}$  농도-의존적으로 수축이 증가하였으나  $\text{Sr}^{2+}$ 이 있는 경우 수축은  $\text{Ca}^{2+}$ 이 있는 경우에 비하여 작았으며 그 비율은 앞서의  $\text{K}^+$  농도-수축곡선들에서와 비슷하였다(Fig. 5). 이상의 결과는  $\text{Sr}^{2+}$ 은 막전압의 변화에 의하여 개폐되는 POC를 통하여 잘 이동되며 세포내  $\text{Ca}^{2+}$ 이  $\text{Sr}^{2+}$ 으로 치환되고 세포밖에  $\text{Sr}^{2+}$ 이 있는 경우에도 수축이 세포밖  $\text{Sr}^{2+}$  농도에 의존적으로 일어남은  $\text{Sr}^{2+}$ 이 신동맥 평활근의 수축기구를 활성화하여 수축을 일으킬 수 있음을



암시한다.

세포내  $Ca^{2+}$  저장소에  $Sr^{2+}$ 이 저장된다는 사실은 Somlyo와 Somlyo(1971)에 의하여 혈관 평활근에서의 근장그물과 미토콘드리아에서, Arjamaa(1971)에 의하여 난관 평활근에서의 근세포막의 안쪽, 근장그물과 미토콘드리아에서 보고된 바 있다. 또한 Uhrlik과 Zacharova(1988)는 개구리의 골격근에서  $Ca^{2+}$ 과 같은 2가 양이온인  $Sr^{2+}$ 과  $Ba^{2+}$ 이  $Ca^{2+}$ 과 같은 저장소에 저장된다는 것을 보고한 바 있는데 본 실험의 신동맥 평활근에서도 세포내  $Ca^{2+}$ 을 고갈시키고  $Sr^{2+}$ 으로 치환시킨 세포에서 세포외액에  $Ca^{2+}$  또는  $Sr^{2+}$ 이 없는 Tyrode 용액에서 NE으로 수축이 일어난 것은 세포내에 저장된  $Sr^{2+}$ 이 유리되어 수축이 일어난다는 사실을 뒷받침해 주었다.

Uvelius등(1974)은  $Sr^{2+}$  용액에서 고농도  $K^+$ 에 의한 쥐 간문맥의 수축은 정상용액에서 수축과 비슷하나 NE에 의한 수축은 정상용액에서의 수축보다 작다고 보고하였으며 이 같은 사실은 Arner등(1981, 1983)에 의해서도 보고된 바 있다. 또한 Hagiwara(1983)은 신경과 골격근 그리고 심근에서  $Sr^{2+}$ 의 POC에 대한 투과도가  $Ca^{2+}$ 과 비슷하다고 하였다. Karaki등(1986)은 토끼와 쥐의 대동맥 및 guinea-pig의 결장뉴에서  $Sr^{2+}$ 의  $Ca^{2+}$  통로 투과도를 관찰한 결과  $Sr^{2+}$  용액에서  $K^+$  수축은 정상 용액에서의와 비슷하나 NE과 histamine과 같은 수축제에 의한 수축은 작게 일어났고 고농도  $K^+$ 에 의한 수축시  $Sr^{2+}$ 의 유입도  $Ca^{2+}$ 의 유입만큼 많았다. 그러나 NE과 histamine에 의한 수축에서는  $Sr^{2+}$ 의 유입이  $Ca^{2+}$ 의 유입보다 적어,  $Sr^{2+}$ 의 POC에 대한 투과도는  $Ca^{2+}$ 과 비슷하나 ROC에 대한 투과도는  $Ca^{2+}$ 보다 적다고 보고한 바 있다. 가토 신동맥을 이용한 본 연구에서도  $Sr^{2+}$ 은 ROC를 통하여 거의 이동되지 못하며 POC를 통해서도 비교적 잘 이동될 수 있음이 관찰되었는 바, 이는  $Sr^{2+}$ 이 평활근에서 ROC를 통하여는 잘 이동하지 못하나 POC를 통해서도 잘 이동한다는 사실을 뒷받침해 주었다.

Uvelius등(1974)과 Taniyama등(1977)은 각각 쥐의 간문맥과 회장에서 세포내  $Ca^{2+}$ 을 고갈시킨 후  $Sr^{2+}$  용액에서 탈분극에 의한 수축이 일어나는 것으로 보아  $Sr^{2+}$ 이 세포안으로 유입되면서 저장고에 있는  $Ca^{2+}$ 을 유리시켜 수축을 일으키는 것이 아니라

직접 세포내의 수축기구를 활성화시키기 때문이라고 보고하였다. 본 실험에서도 세포내  $Ca^{2+}$ 을 NE로 고갈시키고  $Sr^{2+}$ 으로 incubation한 후 고  $K^+$  용액과 NE로 수축시킨 결과 수축이 일어났다. 이러한 결과는 가토 신동맥에서  $Sr^{2+}$ 이 수축기구를 직접 활성화시켜 수축을 일으킴을 시사한다.

Hai와 Murphy(1988)는 돼지 경동맥 평활근에서  $Sr^{2+}$ 과 마찬가지로 myosin의 인산화를 통하여 수축을 일으키나 그 친화도는 40배 적다고 하였으며 Kamm와 Stull(1985)은  $Sr^{2+}$ 이  $Ca^{2+}$ -calmodulin의 존성 효소인 MLCK(myosin light chain kinase)를 활성화시킬 수 있다고 하였고 Chao등(1984)은 2가 양이온의 calmodulin에 대한 친화도를 측정하였는데  $Ca^{2+} > Cd^{2+} > Sr^{2+} > Pb^{2+} > Mn^{2+} > Ba^{2+}$ 의 순으로  $Sr^{2+}$ 이  $Ca^{2+}$ 보다 친화도가 적다고 하였다. Karaki등(1986)은 토끼와 쥐의 대동맥 그리고 Guinea-pig 결장뉴의 skinned fiber에서  $Sr^{2+}$ 과  $Ca^{2+}$ 으로 수축을 일으켜 친화도를 비교한 결과에서도  $Sr^{2+}$ 은  $Ca^{2+}$ 에 비하여 수축기구와의 친화성이 20~60배 낮은 것으로 보고하였다. 본 실험에서  $Sr^{2+}$  용액에서 평활근의 수축은  $Ca^{2+}$  용액에서 수축에 비해 작게 일어났는데 이는  $Sr^{2+}$ 이  $Ca^{2+}$ 에 비하여 수축기구와의 친화도가 작은 것이 중요한 이유중 하나인 것으로 생각한다.

$Sr^{2+}$  Tyrode 용액에서 NE 또는 100 mM  $K^+$ 에 의한 수축에  $Ca^{2+}$  통로 차단제인 verapamil을 투여한 결과 정상 Tyrode 용액에서의와 마찬가지로 양자 모두에서 수축은 verapamil에 의하여 억제되었다(Fig. 6, 7). 이는  $Sr^{2+}$ 이  $Ca^{2+}$  통로를 통하여 유입되며 NE에 의한 세포내  $Sr^{2+}$  유리도 verapamil에 의하여 억제될 수 있음을 의미한다.

정상 Tyrode 용액에서 NE 또는 고농도  $K^+$ 에 의한 수축에  $Sr^{2+}$ 의 효과를 알아본 결과 세포외액의  $Sr^{2+}$ 은 NE과 40 mM  $K^+$ 에 의한 수축을 감소시켰다(Fig. 8). 이러한 결과를 Yasuda와 Sakai(1984)는  $Sr^{2+}$ 이  $Ca^{2+}$ 의 유입을 억제한다고 하였으며 Arner등(1983)은 수축제와 수용체의 상호작용에  $Ca^{2+}$ 이 필수적인데  $Sr^{2+}$ 이  $Ca^{2+}$ 의 역할을 대행하지 못하기 때문이라고 하였다. 그러나 100 mM  $K^+$ 에 의한 수축의 경우에도 세포외액의  $Sr^{2+}$ 에 의하여 수축이 증가되었는데 이는 고농도  $K^+$ 에 의한 수축시 세포외

액의  $Sr^{2+}$ 이  $Ca^{2+}$  유입을 억제하지 않고 오히려 세포내로 유입되 수축에 참여함으로써 수축이 증가된 것으로 생각되나 그 기전은 더 연구되어야 할 문제로 생각한다.

$Sr^{2+}$  Tyrode 용액에서 일어난 수축에  $Ca^{2+}$ 이 보완적 이용될 수 있는지를 알아보기 위하여  $Sr^{2+}$  용액에서 NE 또는 100 mM  $K^+$ 으로 수축시키고 부가적으로 세포외액에  $Ca^{2+}$ 을 투여한 결과 양자 모두에서 수축은 증가했으나(Fig. 9, 10) 정상 Tyrode 용액에서의 수축수준에는 도달하지 못했다. 이러한 수축의 증가는  $Ca^{2+}$ 이  $Sr^{2+}$ 보다  $Ca^{2+}$  통로에 대해서 투과도가 더 크고 수축기구와의 친화도가  $Sr^{2+}$ 보다 크기 때문이라 생각한다.

이상의 결과로 보아 가토 신동맥 평활근에서  $Sr^{2+}$ 은 POC를 통하여 잘 이동하나 ROC를 통하여는 잘 이동하지 못하며, 세포내  $Ca^{2+}$  저장소에 저장될 수 있고 NE에 의하여 유리되며 직접 수축기구를 활성화하여 수축을 일으킨다. 또한  $Sr^{2+}$ 은  $Ca^{2+}$ 에 의한 수축에 보완적이지 못하나  $Ca^{2+}$ 은  $Sr^{2+}$ 에 의한 수축에 보완적인 것으로 생각되었다.

### 결 론

$Sr^{2+}$ 이 가토 신동맥 평활근의 수축과정에서  $Ca^{2+}$ 의 역할대행기전과 그 정도를 구명하고자 하였다. 신동맥 절편(helical strip)를 tris-완충 Tyrode 용액에서 혈관 평활근내의  $Ca^{2+}$ 을  $Sr^{2+}$ 으로 치환한 세포와 정상 세포를 세포외의  $Ca^{2+}$  또는  $Sr^{2+}$  농도를 바꾸면서 고  $K^+$  또는 norepinephrine(NE)으로 수축을 일으키고 수축을 검토한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

- 1)  $Sr^{2+}$  Tyrode 용액에서 수축은 NE 또는  $K^+$ 의 농도에 비례하여 증가하였다.
- 2) NE에 의하여 유발되는  $Sr^{2+}$ 에 의한 수축은 세포의  $Sr^{2+}$  농도에 비례하여 증가하지 않았다.
- 3) 고  $K^+$ 에 의해 유발되는  $Sr^{2+}$ 에 의한 수축은 세포의  $Sr^{2+}$  농도에 비례하여 증가하였다.
- 4) 최대수축을 일으키는 NE 및 고  $K^+$ 에서  $Sr^{2+}$ 에 의한 수축은  $Ca^{2+}$ 에 의한 수축의 각각 약 50% 및 70%를 나타내었다.
- 5)  $Sr^{2+}$  Tyrode 용액에서 NE 및 고  $K^+$ 에 의한 수

축은 verapamil에 의하여 억제되었다.

6) 정상 Tyrode 용액에서 NE과 40 mM  $K^+$ 에 의한 수축은  $Sr^{2+}$  투여에 의하여 감소하였으나 100 mM  $K^+$ 에 의한 수축은 증가하였다.

7)  $Sr^{2+}$  Tyrode 용액에서 NE과 고  $K^+$ 에 의한 수축은  $Ca^{2+}$ 의 투여에 의하여 증가되었으나 정상 Tyrode 용액에서의 수축수준에 도달하지는 못했다.

이상의 결과로 보아  $Sr^{2+}$ 은 신동맥 평활근에서 POC는 비교적 잘 통과하나 ROC는 잘 통과하지 못하며 또한 세포내에 저장될 수 있고 수축제에 의하여 유리되며 직접 수축기구에 작용하여 수축을 일으키는 것으로 사료된다.

### REFERENCES

Arjamaa O (1982). Effects of  $Ca^{2+}$  on the contractility and  $Sr^{2+}$  accumulation in the quail oviductal smooth muscle. *Acta Physiol Scand* 115, 479-485

Arner A, Lövgren B & Tomita T (1981).  $Sr^{2+}$  as a substitute for  $Ca^{2+}$  in different modes of activation in rat portal vein. *Abstract Acta Physiol* 112, 28A

Arner A, Lövgren B & Uvelius B (1983). The effects of  $Ca^{2+}$  and  $Sr^{2+}$  at different modes of activation in the smooth muscle of the portal vein. *Acta Physiol Scand* 117, 541-545

Chang SJ, Kim SH, Jeon BH & Park HG (1990). Effects of  $H^+$  on the contraction induced by various agonists in the renal artery of a rabbit. *Korean J Physiol* 24(1), 161-170

Chao CH, Suzuki Y, Zysk JR & Cheung WY (1984). Activation of calmodulin by various metal cations as a function of ionic radius. *Molecular Pharmacology* 26, 75-82

Cognard C & Raymond G (1985). The strontium-induced  $Ca^{2+}$  release process and its implication in contractility of skeletal muscle of *Rana ridibunda*. *Proc Roy Soc (London)* B224, 489-509

Deth R & van Breemen C (1974). Relative contributions of  $Ca^{2+}$  influx and cellular  $Ca^{2+}$  release during drug induced activation of the rabbit aorta. *Pflügers Arch* 348, 13-22

Edward C, Lorkovic H & Weber A (1966). The effects of the replacement of calcium by strontium on excitation-contraction coupling in frog skeletal mus-

- cle. *J Physiol* 186, 295-306
- Hagiwara S, Fukuda J & Eaton DC (1974). Membrane currents carried by Ca, Sr, and Ba in barnacle muscle fiber during voltage clamp. *J Gen Physiol* 63, 564-578
- Hagiwara S (1983). Membrane potential-dependent ion channels in cell membrane. *Raven Press New York*
- Hai CM & Murphy RA (1988).  $Sr^{2+}$  activates cross-bridge phosphorylation and latch state in smooth muscle. *Am J Physiol* 225, C401-C407
- Heibrunn LV & Wiercinski FJ (1947). The action of various cations on muscle protoplasm. *J Cell Comp Physiol* 29, 15-32
- Hoar PE, Kerrick WGL & Cassidy PS (1979). Chicken gizzard: Relation between calcium-activating phosphorylation and contraction. *Science Wash DC* 204, 503-506
- Inomata H & Kao CY (1979). Ionic mechanisms of repolarization in the guinea-pig taenia coli as revealed by the actions of strontium. *J Physiol* 297, 443-462
- Kamm KE & Stull JT (1985). The function of myosin light chain kinase phosphorylation in smooth muscle. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 25, 593-620
- Karaki H, Nakagawa H & Urakawa N (1986). Strontium uptake during the different modes of contraction in the smooth muscle of rabbit aorta, rat aorta and guinea-pig taenia coli. *Arch Int Pharmacodyn* 282, 93-107
- Somlyo AV & Somlyo AP (1971). Strontium accumulation by SR and mitochondria in vascular smooth muscle. *Science* 174, 955-958
- Taniyama K, Yoshida N, Takahashi N & Araki H (1977). Action of Ba and Sr ions on isolated rat ileum. *Jap J Pharmac* 27, 327-329
- Uhrik B & Zacharova D (1988). Intracellular site  $Sr^{2+}$  and  $Ba^{2+}$  accumulation in frog twitch muscle fibers as determined by electron probe X-ray microanalysis. *Gen Physiol Biophys* 7, 569-581
- Uvelius B, Sigurdsson SB & Johnansson B (1974). Strontium and barium as substitute for calcium on electrical and mechanical activity in rat portal vein. *Blood Vessels* 11, 245-259
- Yasuda N & Sakai Y (1984). A possible explanation for effects of Sr on contraction-relaxation cycle in canine stomach. *Comp Biochem Physiol [A]* 78(1), 35-41