

가토 신동맥 평활근에서 Barium의 수축작용

충남대학교 의과대학 생리학교실

전병화 · 김상섭 · 김세훈 · 장석종

(1990년 11월 5일 접수)

= Abstract =

Contractile Action of Barium in the Rabbit Renal Artery

Byeong Hwa Jeon, Sahng Seop Kim, Se Hoon Kim and Seok Jong Chang

Department of Physiology, School of Medicine, Chungnam National University, Taejeon, Korea

The contractile action of barium (Ba^{2+}) was investigated in the arterial strip of rabbit renal artery. The helical strip of isolated renal artery was immersed in the Tris-buffered Tyrode's solution equilibrated with 100% O_2 at 37°C and its isometric tension was measured.

Ba^{2+} -induced contraction of arterial strip was dose-dependent and its maximal tension corresponded to $92.1 \pm 4.5\%$ of tension by K^+ (100 mM). Ba^{2+} -induced contraction did not show the tachyphylactic phenomenon in the normal Tyrode's solution.

Ba^{2+} induced the tonic contraction in the Ca^{2+} -free tyrode's solution and that was increased by the extracellular addition of Ca^{2+} . During the repeated exposure of the same dose of Ba^{2+} (10 mM) in the Ca^{2+} -free Tyrode's solution, Ba^{2+} -induced contraction was progressively decreased. Even though the intracellular NE-and caffeine-sensitive Ca^{2+} was depleted, Ba^{2+} induced the tonic contraction. After the pretreatment of lanthnum or verapamil, Ba^{2+} did not induce contraction. Ba^{2+} -induced contraction was suppressed by extracellular K^+ in the normal Tyrode's solution and that was dependent on K^+ concentration. Suppressive effect of K^+ (14 mM) on the Ba^{2+} -induced contraction was also dependent on the intracellular Ca^{2+} concentration.

From the above results, it is suggested that Ba^{2+} activate indirectly the contractile process by promoting the mobilization of intracellular Ca^{2+} and the influx of extracellular Ca^{2+} . It is also suggested that action of Ba^{2+} on the Ca^{2+} -activated K^+ channel can result in the depolarization of cell membrane in the rabbit renal artery.

Key Words: Vascular smooth muscle, Barium, Calcium, Ca^{2+} -activated K^+ channel, High potassium

서 론

평활근세포의 수축과 이완은 세포내의 Ca^{2+} 농도에 의해 조절되며(Bohr, 1963, 1973; Ebashi & Endo, 1968) 수축에 이용되는 Ca^{2+} 의 동원은 막전압의 감소(저분극) 또는 세포막에 존재하는 수용체

에 수축물질의 결합에 의하여 세포외액의 Ca^{2+} 유입이나 세포내의 Ca^{2+} 저장고로부터의 Ca^{2+} 유리에 의하여 이루어진다(Godfraind & Kaba, 1972; Keatinge, 1972; Bohr, 1973).

Barium(Ba^{2+})이 혈관 평활근에서 수축작용을 나타냄은 주지의 사실이나 Ba^{2+} 에 의한 수축작용기전은 매우 다양하며 아직 확실치 않은점이 많다. Ba^{2+}

은 고농도 K^+ 에 의한 수축과 마찬가지로 막전압을 감소(저분극)시킴으로서 세포로부터 Ca^{2+} 유입을 증가시켜며(Northover, 1968; Karaki et al, 1967, 1969; Antonio et al, 1973; Nasu & Urakawa, 1973) 또한 세포내의 Ca^{2+} 저장고로부터 Ca^{2+} 을 유리시켜(Uvelius et al, 1974; Hai & Murphy, 1987; Ebeigbe & Aloamaka, 1987) 수축에 필요한 Ca^{2+} 을 동원한다. 그러나 Ba^{2+} 이 수축기구를 직접 활성화하여 수축을 일으킬 수 있는가에 대하여는 활성화시킬 수 있다는 보고들(Daniel, 1963; Hansen et al, 1984)과 없다는 상반된 보고들(Chao et al, 1984; Hai & Murphy, 1987)이 있으며 Ba^{2+} 이 고농도 K^+ 에 의한 수축에서와 마찬가지로 평활근에 분포하는 신경말단에 작용하여 신경전달물질을 유리시키는 작용이 있다는 보고들(Ambache, 1946; Feldberg, 1951)이 있으나 신경전달 물질의 유리와는 관계가 없다는 보고들(Hansen et al, 1984; Mishra et al, 1988)도 있다.

혈관 평활근에서 K^+ 통로가 활성화되면 막전압이 증가되어(과분극) 혈관수축이 억제되며 K^+ 통로가 차단되면 막전압이 감소되어 수축이 증가된다(Hara et al, 1980; Hamilton et al, 1986; Hof et al, 1988). 이는 막전압 의존성 Ca^{2+} 통로(Voltage-dependent Ca^{2+} channel)을 통한 Ca^{2+} 의 유입이 막전압의 감소에 의하여 증가되며 막전압의 증가에 의하여 억제되기 때문이다. K^+ 통로를 통한 세포내 K^+ 유출의 증감은 세포막에 존재하는 여러종류의 K^+ 통로에 의하여 조절되며, 특히 Ca^{2+} 에 의하여 활성화되는 K^+ 통로 즉 Ca^{2+} -activated K^+ 통로는 혈관 평활근에서 K^+ 유출을 조절하여 막전압의 조절에 중요한 역할을 한다는 사실들이 보고(Benham et al, 1986; McCann & Welsh, 1986; Cecchi et al, 1986)되고 있다.

Ba^{2+} 의 수축작용이 주로 막전압의 감소(저분극)에 기인한다는 것은 오래 전부터 알려져 왔으며(Suzuki et al, 1964; Hotta & Tsukui, 1968; Bülbring & Tomita, 1969) Ba^{2+} 의 이러한 막전압 감소기전은 Ba^{2+} 이 세포막에서 K^+ 유출을 감소시키기 때문이라는 보고들(Hermsmeyer, 1976; Walsh & Singer, 1980; Inomata & Kao, 1985)이 있으나 어떤 K^+ 통로를 통하여 일어나는지는 알려져 있지 않다.

이와 같이 신동맥 평활근에서 Ba^{2+} 의 수축작용은

연구자들에 따라 다양하게 보고되고 있으며 또한 Ba^{2+} 에 의한 세포막의 탈분극기전에 대해서는 잘 알려져 있지 않다. 따라서 자자는 신동맥 평활근에서 탈분극을 통하여 수축을 일으키는 것으로 알려진 고농도 K^+ 용액에 의한 수축과 Ba^{2+} 에 의한 수축을 비교함으로써 Ba^{2+} 에 의한 수축이 어떠한 기전을 통하여 일어나는지를 규명하고자 하였다.

실 험 방 법

체중 2.0 Kg 내외의 뉴질랜드산 백색 토끼(New Zealand white)를 암수 구별 없이 사용하였다. 토끼의 흥분으로 인한 아드레날린의 분비를 가능한 한 줄이기 위하여 후두부를 순간적으로 강타하여 즉사케한 후 즉시 총경동맥을 절단하여 실험시켰다. 개복하여 신동맥을 적출한 후 100% 산소로 평형을 이룬 tris-완충 Tyrode 용액이 들어 있는 준비용기 내에서 혈관 주위 조직을 깨끗이 박리하고 실온에서 1 시간 동안 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. 근육 고정기에 절편 양끝을 이완상태에서 실로 고정한 후 37°C에서 100% 산소로 평형을 이룬 tris-완충 Tyrode 용액이 들어있는 실험용기(용량 100 ml)에 옮겼다. 근육 고정기의 유리선을 장력변환기(F-60, Narco Biosystem)에 연결하고 20분 간격으로 새로운 용액을 갈아 주면서 1시간 동안 회복시켰다. 이상의 처리가 끝난 후 견인기로서 혈관절편의 길이의 10%씩 단계적으로 늘이면서 길이-장력 관계를 관찰하고 최적길이를 결정하였다. 실험용기는 항온순환기로서 물을 순환시켜 37°C를 유지하게 하였으며, 장력의 기록은 장력변환기 및 피지오그래프(MK-IV, Narco Biosystem)를 이용하였다(Chang et al, 1990).

본 실험에서 사용한 Tyrode 용액의 조성은 NaCl; 158, KCl; 4, $CaCl_2$; 2, $MgCl_2$; 1, Tris; 6, Glucose; 6 mM이었고 pH는 37°C에서 7.35가 유지되게 하였다. 고농도 K^+ -수축용액으로는 등장성을 유지하기 위하여 정상 Tyrode 용액의 Na^+ 을 줄인 대신 K^+ 을 높여 만든 40 또는 100 mM K^+ Tyrode 용액을 사용

하였다. Norepinephrine (NE)과 Caffeine에 민감한 세포내 Ca^{2+} 을 고갈시켜 실험할 경우에는 0.1 mM EGTA가 포함된 Ca^{2+} -free Tyrode 용액에 $10^{-5}M$ 의 NE과 20 mM의 caffeine을 투여하였는데 이들에 의하여 수축이 나타나지 않을 때까지 반복하였다 (Deth & van Breemen, 1977; Karaki et al, 1979; Leijten & van Breemen, 1984).

모든 실험은 약물투여가 끝난 후 3회 이상 세척하여 기본장력이 이전 실험으로부터 회복되었음을 확인한 후 다음 실험을 진행하였으며 Ca^{2+} -free Tyrode 용액은 잔존 Ca^{2+} 을 제거하기 위하여 0.1 mM EGTA를 첨가하여 사용하였다.

실험에 사용한 약물은 다음과 같다.

- Calcium chloride (Sigma)
- Barium chloride (Mallinckrodt)
- Potassium chloride (Sigma)
- Arterenol hydrochloride (Sigma)
- Phentolamine (Sigma)
- Verapamil (Sigma)
- Caffeine (Sigma)
- Ethylene glycol bis (β -aminoethyl ether)-N,N,N',N'-tetracetic acid (Sigma)

실 험 성 적

가토 신동맥 평활근에서 K^{+} 농도 변화에 따른 수축을 K^{+} 에 의한 최대수축의 백분율로 환산하여 K^{+} 의 용량반응곡선을 Fig. 1에 도시하였다. Fig. 1에 도시된 바와 같이 신동맥 평활근은 K^{+} 15 mM에서 수축을 시작하여 100 mM에서 최대를 나타냈다. 또한 Ba^{2+} 농도 변화에 따른 수축을 K^{+} 에 의한 최대수축(100 mM K^{+})의 백분율로 환산하여 Ba^{2+} 의 용량반응곡선을 Fig. 2에 도시하였다. Fig. 2에 도시된 바와 같이 Ba^{2+} 은 0.3 mM에서 수축을 시작하여 30 mM에서 최대를 나타냈으며 Ba^{2+} 에 의한 최대 수축은 K^{+} 에 의한 최대 수축(100 mM K^{+})의 $92.1 \pm 4.5\%$ 이었다. 또한 정상 Tyrode 용액에서 Ba^{2+} 10 mM 또는 K^{+} 40 mM의 반복투여에 의하여 수축은 감소되지 않았다(Fig. 3).

Ba^{2+} 에 의한 혈관수축에서 동원되는 세포내의 Ca^{2+} 을 알아보고자 Ca^{2+} -free Tyrode 용액에서 10

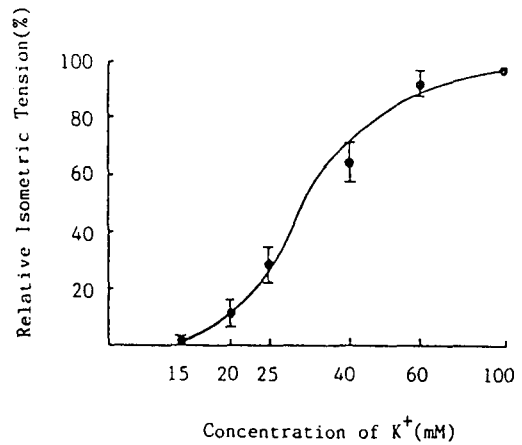


Fig. 1. Dose-response curve of K^{+} in the strips of rabbit renal arteries. Ordinate : Percentage of maximal tension by K^{+} itself. Each point shows the means ($n=5$) and vertical lines are S.E..

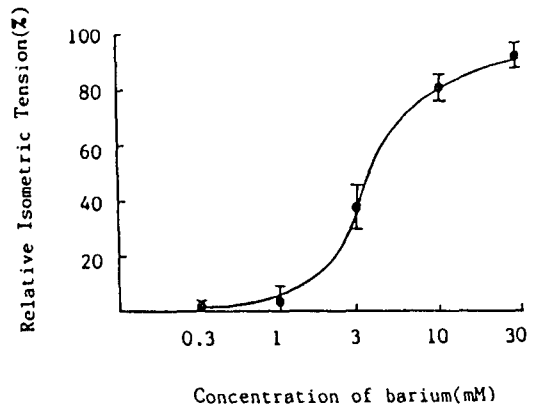


Fig. 2. Dose-response curve of Ba^{2+} in the strips of rabbit renal arteries. Ordinate : Percentage of maximal tension by 100 mM K^{+} . Each point shows the means ($n=5$) and vertical lines are S. E..

mM Ba^{2+} 을 투여하고 수축의 변화를 관찰한 후 세포외액에 Ca^{2+} (2 mM)을 투여하였다(Fig. 4). Fig. 4에서 보는 바와 같이 Ca^{2+} -free Tyrode 용액에서 Ba^{2+} 에 의한 수축(X)은 전체 수축(X+Y)의 $82.5 \pm 2.4\%$ 이었고 부가적인 Ca^{2+} 투여에 의하여 수축은 더욱 증가하였는데 이때 증가한 양은 전체 수축의 $17.6 \pm 4.2\%$ 이었다(Fig. 4B).

Ba^{2+} 에 의한 수축에서 세포내 Ca^{2+} 동원의 반복성을 관찰하고자 Ca^{2+} -free Tyrode 용액에서 Ba^{2+}

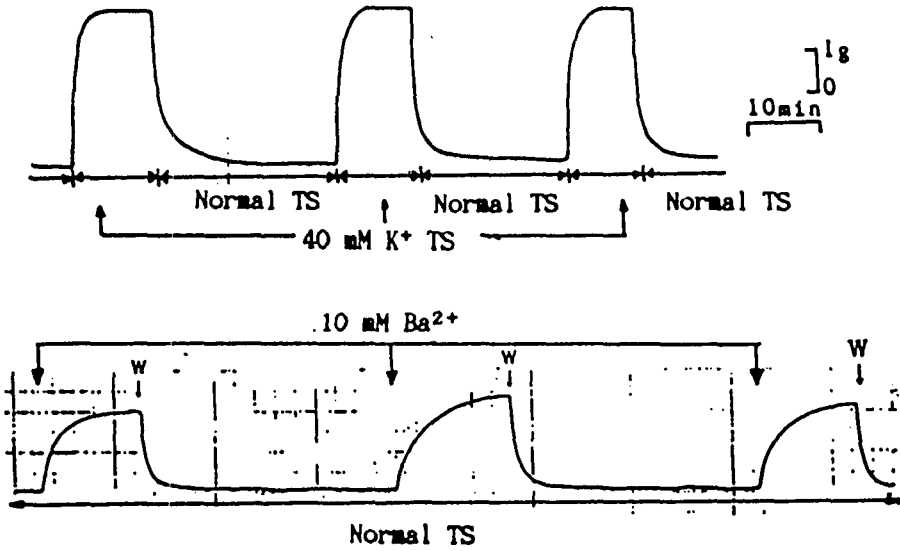


Fig. 3. Typical tracing which showed reproducible contractile responses to repeated high K^+ (40 mM) or 10 mM Ba^{2+} in the normal Tyrode's solution in the strip of rabbit renal artery
W : Washing

으로 수축을 반복시킨 결과(Fig. 5) 수축의 반복에 따라 수축의 크기는 점차 감소하였다.

Ba^{2+} 에 의한 수축에서 동원되는 세포내 Ca^{2+} 공급원을 알아보하고자 Ca^{2+} -free Tyrode 용액에서 NE ($10^{-5}M$)과 caffeine(20 mM)을 반복 투여하여 NE와 caffeine에 민감한 세포내 Ca^{2+} 을 고갈시킨 후 10 mM Ba^{2+} 을 투여한 결과(Fig. 6) 수축이 유발되었다. 그러나 이 수축은 NE와 caffeine에 민감한 세포내 Ca^{2+} 을 고갈시키기 전에 비하여 작았고 최대수축에 도달하는 시간도 길었다.

혈관 평활근에서 Ba^{2+} 이 세포내·외 어느곳에서 작용하여 수축작용을 나타내는지를 구명하고자 Ca^{2+} -free Tyrode 용액에서 또는 La^{3+} 을 전처치한 정상 Tyrode 용액에서 고농도 K^+ (Fig. 7A), NE (Fig. 7B) 그리고 Ba^{2+} (Fig. 7C)을 각각 투여하였다. 결과 Ca^{2+} -free Tyrode 용액에서 고농도 K^+ (40 mM)용액에 의하여 수축은 일어나지 않았으며 부가적인 Ca^{2+} (2 mM)투여로 수축은 곧 유발되었다. 이러한 고농도 K^+ (40 mM)용액에 의한 수축은 La^{3+} ($10^{-4}M$) 전처치에 의하여 차단되었다(Fig. 7A). NE(10^{-5})의 경우 Ca^{2+} -free Tyrode 용액에서 수축이 유발되었으나 장력은 유지되지 못하였고 부가적

인 Ca^{2+} 투여에 의해 수축은 증가하였으며 동시에 장력도 유지되었다. 이러한 NE($10^{-5}M$)에 의한 수축은 La^{3+} ($10^{-4}M$)을 전처치한 후에도 일어났으나 Ca^{2+} -free Tyrode 용액에서 일어난 수축과 마찬가지로 장력을 유지하지 못하였다(Fig. 7B). Ba^{2+} (10 mM)에 의한 수축의 경우 Ca^{2+} -free Tyrode 용액에서도 수축이 유발되었으며 장력도 유지되었고 부가적인 Ca^{2+} (2 mM)투여에 의하여 수축은 더욱 증가하였다. 이러한 Ba^{2+} 에 의한 수축은 고농도 K^+ 에 의한 수축과 마찬가지로 La^{3+} ($10^{-4}M$) 전처치에 의하여 차단되었다(Fig. 7C).

혈관 평활근에서 Ba^{2+} 에 의한 수축이 verapamil에 의하여 차단될 수 있는지를 알아보하고자 정상 Tyrode 용액에서 Ca^{2+} 통로 차단제인 verapamil ($10^{-6}M$)을 전처치한 후 Ba^{2+} (10 mM)을 투여하였다(Fig. 8). 결과 Ba^{2+} 에 의한 수축은 verapamil 전처치에 의하여 완전히 차단되었다.

Ba^{2+} 이 혈관 평활근에 분포하는 교감신경 말단에 작용하여 NE를 유리시킬 수 있는지를 알아보하고자 고농도 K^+ 용액과 Ba^{2+} 으로 수축시키고 α -수용체 차단제인 phentolamine을 각각 투여하였다. 그 결과 40 mM K^+ 에 의한 수축은 phentolamine($10^{-5}M$)

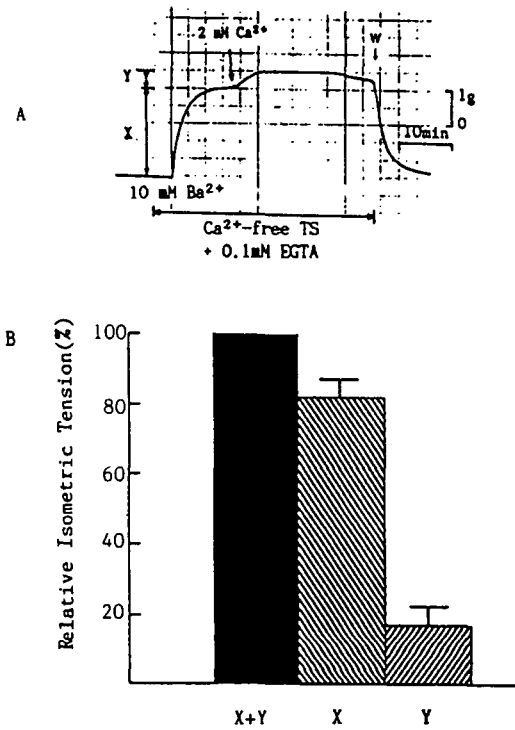


Fig. 4. Effect of Ca²⁺ on the Ba²⁺-induced contraction in the strips of rabbit renal arteries. Upper tracing showed the contractile response to Ba²⁺ in the Ca²⁺-free Tyrode's solution and the effect of Ca²⁺ on that contraction. Lower bar chart showed the quantitative analysis of figure 4A. Each bars show mean values and vertical lines are S.E.(n=9).

X+Y : The maximal contraction induced by 10 mM Ba²⁺

X : The percentage of contraction induced by Ba²⁺ in the Ca²⁺-free Tyrode's solution.

Y : The percentage of contraction increased by the extracellular addition of Ca²⁺

에 의하여 부분적으로 억제되었으나(Fig. 9A) 10 mM Ba²⁺에 의한 수축은 억제되지 않았다(Fig. 9B).

세포의 K⁺ 농도 변화가 Ba²⁺에 의한 혈관수축에 미치는 영향을 알아보고자 K⁺의 농도를 각각 4(정상 Tyrode 용액), 6, 10, 14, 25 mM로 변화시키고 각각의 농도에서 수축의 변화를 정상 Tyrode 용액에서의 수축에 대한 백분율로 환산하여 Fig. 10에 도시하였다. Fig. 10에 보는 바와 같이 Ba²⁺에 의한 수축

은 K⁺ 6, 10, 14, 25 mM에서 각각 정상 Tyrode 용액에서의 수축의 94.6 ± 1.0%, 82.3 ± 5.7%, 25.1 ± 12.6%, 14.5 ± 9.9%로서 세포의 K⁺ 농도가 증가함에 따라 농도의존적으로 감소하였다.

Ba²⁺에 의한 혈관 수축이 세포외액의 K⁺에 의하여 억제되는 기전이 세포내의 Ca²⁺과 어떠한 연관이 있는지를 규명하고자 정상 Tyrode 용액, Ca²⁺-free Tyrode 용액, 그리고 NE과 caffeine에 민감한 세포내 Ca²⁺을 고갈시킨 혈관을 Ca²⁺-free Tyrode 용액에서 각각 10 mM의 Ba²⁺으로 수축시키고 세포외액에 K⁺ 농도가 14 mM이 되게 K⁺을 투여한 후 시간변화에 따른 수축변화를 K⁺ 투여 이전 각각의 수축의 백분율로서 도시하였다(Fig. 11). Fig. 11에서는 보는 바와 같이 정상 Tyrode 용액에서 Ba²⁺ (10 mM)에 의한 수축은 K⁺ (14 mM) 투여에 의하여 급격히 억제되어 1분후에는 K⁺ 투여 이전의 수축의 38.4 ± 11.7%이었으며 10분에 최대를 보여 18.0 ± 13.7%이었다. 이후 수축은 증가되기 시작하여 약 30분 후에는 평형에 도달하여 79.7 ± 5.1%를 나타냈다. Ca²⁺-free Tyrode 용액과 NE과 caffeine에 민감한 세포내 Ca²⁺을 고갈시킨 후 Ca²⁺-free Tyrode 용액에서 Ba²⁺에 의한 수축은 K⁺ (14 mM)에 의하여 억제되었으나 정상 Tyrode 용액에서 억제되는 정도보다 적어 10분후에 각각 78.5 ± 2.6%, 95.9 ± 2.3%이었으며 이러한 수축은 30분 후에 38.4 ± 7.4%, 81.9 ± 4.1%를 나타냈는데 수축은 이후에도 계속 감소하였다.

고 찰

Barium(Ba²⁺)은 평활근에서 주로 막전압을 감소시켜 수축을 일으키는 것으로 알려져 왔다(Suzuki et al, 1964; Hotta & Tsukui, 1968; Bülbbring & Tomita, 1969). 평활근의 수축과 이완은 세포내의 Ca²⁺ 농도에 의해 조절되며(Bohr, 1963, 1973; Ebashi & Endo, 1968) 수축에 동원되는 Ca²⁺의 공급은 막전압의 감소(저분극) 또는 세포막에 존재하는 수용체에 수축물질의 결합에 의하여 세포외액의 Ca²⁺ 유입이나 세포내의 Ca²⁺ 저장고로부터의 유리에 의하여 이루어진다(Godfraind & Kaba, 1972; Keatinge, 1972; Bohr 1973).

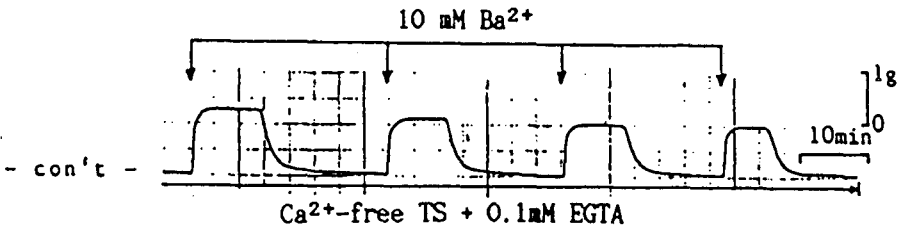
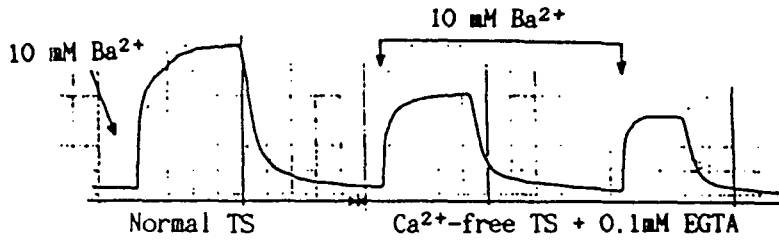


Fig. 5. Effect of repeated exposure of the same dose of Ba^{2+} (10 mM) in the Ca^{2+} -free Tyrode's solution. The amplitude of contractions were progressively decreased by repeated exposure of Ba^{2+}

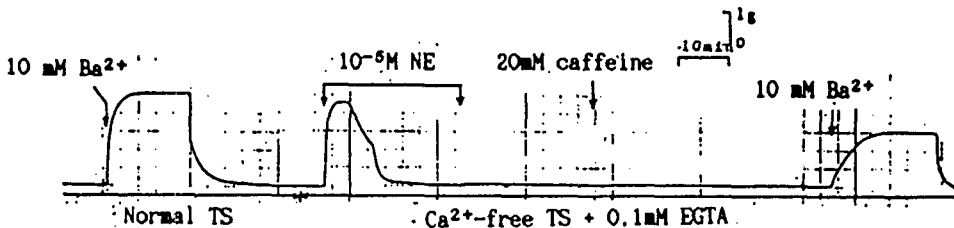


Fig. 6. Contractile response of arterial strips by Ba^{2+} after depletion of NE- and caffeine-sensitive intracellular Ca^{2+} . Ba^{2+} induced the contraction of arterial strip, even though NE- and caffeine-sensitive intracellular Ca^{2+} was depleted.

본 실험에서 Ba^{2+} 에 의한 수축은 K^+ 에 의한 수축과 마찬가지로 농도-의존적으로 증가하였으며 정상 Tyrode 용액에서 양자 모두 Tachyphylaxis 현상은 없었다. 이와 같이 Ba^{2+} 에 의한 수축이 농도-의존적으로 증가하는 것은 막전압의 탈분극 정도가 농도-의존적이기 때문인 것으로 생각되며 정상 Tyrode 용액에서 Tachyphylaxis 현상이 없는 것은 Ba^{2+} 에 의한 수축작용이 가역적이며 세포막을 탈감작(desensitization)시키지 않는 것을 의미한다.

Karaki 등(1986)은 토끼의 대동맥 평활근에서 Ba^{2+} 은 세포외액의 Ca^{2+} 유입을 증가시킬 뿐 아니

라 세포내에서 Ca^{2+} 저장고로부터 Ca^{2+} 을 유리시킨다고 하였으며 Mishra 등(1988)은 쥐의 정관 평활근에서 Ba^{2+} 에 의한 위상성 수축은 세포내 Ca^{2+} 유리와 세포외의 Ca^{2+} 유입에 의하여 이루어지고 긴장성 수축은 전적으로 세포외의 Ca^{2+} 유입에 의하여 이루어진다고 보고하였다. 본 실험에서 Ba^{2+} 은 세포외액에 Ca^{2+} 이 없는 상태에서도 평활근을 수축시켰는데 (Fig. 4A) 이는 Ba^{2+} 에 의한 세포내 Ca^{2+} 유리에 기인한 것으로 생각되며 세포외액에 Ca^{2+} 을 투여하면 수축이 더욱 증가하였는데 이는 세포외액의 Ca^{2+} 유입이 증가되었기 때문이며 이를 정량적으로

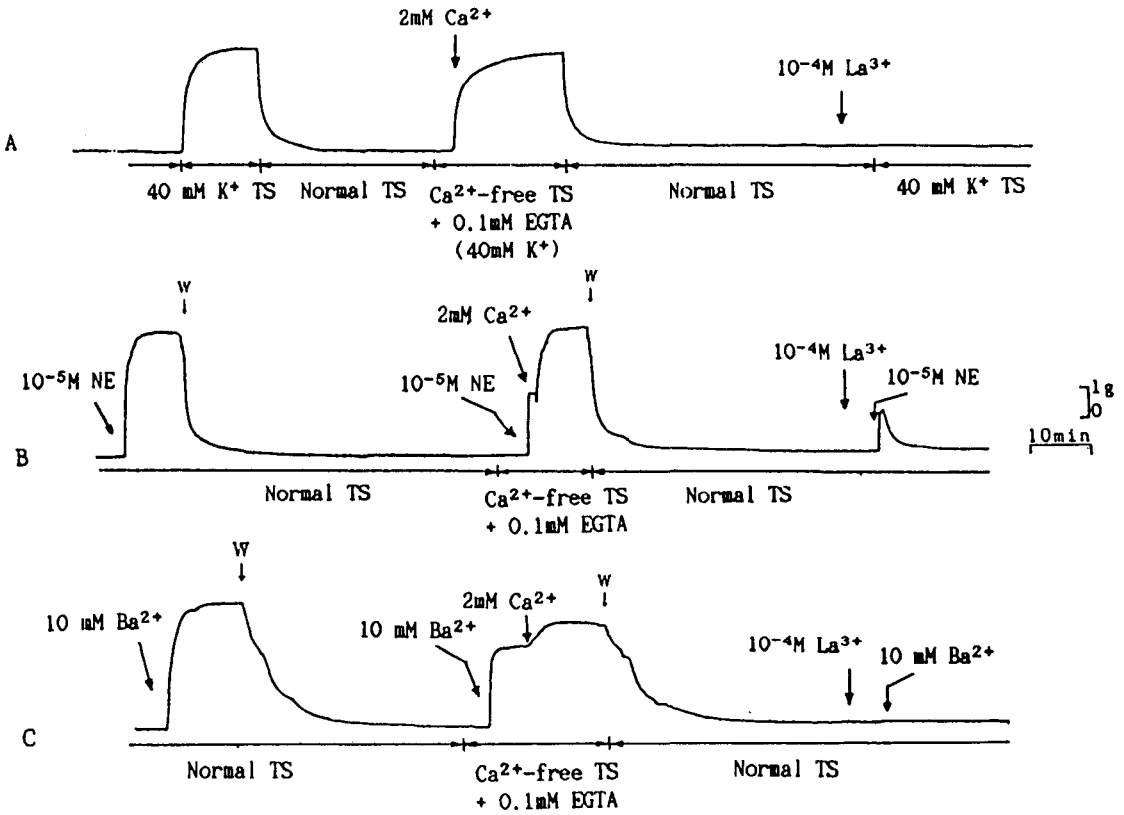


Fig. 7. Effects of pretreatment of La^{3+} on the High K^+ , NE or Ba^{2+} -induced contractions.

A : High K^+ did not induced the contraction after the pretreatment of La^{3+} .

B : NE induced the contraction after the pretreatment of La^{3+} .

C : Ba^{2+} did not induce the contraction after the pretreatment of La^{3+} .

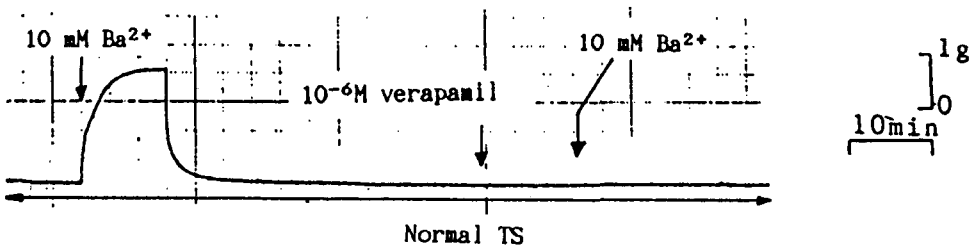


Fig. 8. Effect of the pretreatment of verapamil on the Ba^{2+} -induced contraction. By the pretreatment of verapamil ($10^{-6}M$), Ba^{2+} ($10mM$) did not induce the contraction.

분석하면 (Fig. 4B) Ba^{2+} 에 의한 수축에서 세포내 Ca^{2+} 유리에 의한 수축은 전체 수축의 $82.5 \pm 2.4\%$ 이었으며 세포의 Ca^{2+} 유입에 의한 수축은 전체 수축의 $17.6 \pm 4.2\%$ 로서 세포내 Ca^{2+} 유리에 의한 부분이 더 수축에 크게 기여함을 알 수 있다.

Ba^{2+} 에 의한 수축이 세포내의 Ca^{2+} 과 어떠한 관계가 있는지를 알아보기 위하여 Ca^{2+} -free Tyrode 용액에서 수축이 일어나는 것을 확인한 후 수축을 반복시킨 결과 Ba^{2+} 에 의한 수축은 점차적으로 감소하는 양상을 나타냈다. 이러한 수축의 점차적인 감

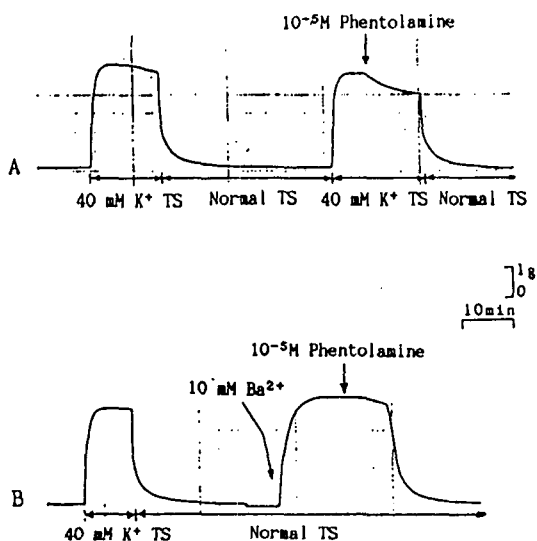


Fig. 9. Effects of phentolamine, α -receptor blocker, on the high K^+ or Ba^{2+} -induced contraction. Phentolamine ($10^{-5}M$) suppressed partially high K^+ (40 mM)-induced contraction but did not suppress Ba^{2+} (10 mM)-induced contraction.
W : Washout

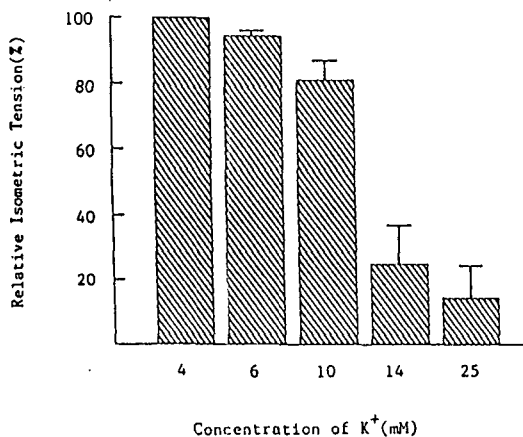


Fig. 10. Effects of extracellular K^+ on the Ba^{2+} -induced contraction in the normal Tyrode's solution. Each bars show the means ($n=5$) and vertical lines are S.E..

소는 Ba^{2+} 이 세포내의 Ca^{2+} 을 유리시키는데 수축이 반복됨에 따라 저장되어 있던 Ca^{2+} 이 점차적으로 고갈(Hai & Murphy, 1987)되기 때문인 것으로 생각된다.

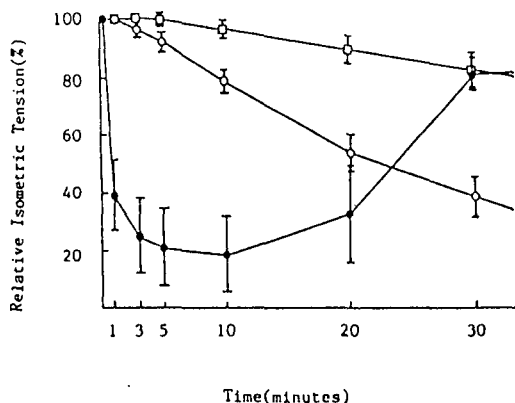


Fig. 11. Effects of extracellular K^+ (14 mM) on the Ba^{2+} -induced contraction in the normal Tyrode's solution (●-●), Ca^{2+} -free Tyrode's solution (○-○) and Ca^{2+} -free Tyrode's solution after depletion of NE- and caffeine-sensitive intracellular Ca^{2+} (□-□). Each point shows the means ($n=6$) and vertical lines are S.E..

세포내 저장된 Ca^{2+} 은 NE에 의하여 유리되어 수축을 유발시키는데 그 양이 적어 일시적으로 수축을 일으키며 반복 수축시킬 경우 NE에 민감한 Ca^{2+} 은 고갈이 되며(Deth & van Breemen, 1977; Karaki et al, 1979) caffeine도 마찬가지로 caffeine에 민감한 Ca^{2+} 을 고갈시킨다(Deth & Lynch, 1981; Leijten & van Breemen, 1984). 이를 근거로 본 실험에서는 Ca^{2+} -free Tyrode 용액에서 NE($10^{-5}M$)과 caffeine (20 mM)으로 세포내의 NE과 caffeine에 민감한 Ca^{2+} 을 고갈시켰다. 이어 Ba^{2+} 을 투여한 결과 Ba^{2+} 에 의해 수축이 일어났는데 이는 Ba^{2+} 이 세포내의 NE과 caffeine에 의해 고갈되지 않는 Ca^{2+} 도 동원할 수 있음을 의미한다. Karaki등(1986)에 의하면 Ba^{2+} 이 NE과 caffeine에 민감한 Ca^{2+} 저장고 이외의 Ca^{2+} 도 유리한다 하였고 Hai와 Murphy(1987)는 Ba^{2+} 에 민감한 Ca^{2+} 저장고는 histamine이나 caffeine 그리고 EGTA에 반응하지 않는 Ca^{2+} 저장고라고 하였다.

본 실험에서 비특이적으로 Ca^{2+} 의 유입이나 유출을 억제하는 것으로 알려진 La^{3+} (Weiss, 1974)을 전처치한 경우 Ba^{2+} 에 의한 수축은 일어나지 않았다. 이와 같은 결과는 Ba^{2+} 의 작용이 세포밖에서 이루어져 세포안의 변화를 동반하여 수축을 일으키는 것은

아니며 Ba^{2+} 이 직접 세포안으로 들어가 세포내에서 작용을 나타냄을 의미한다. Ba^{2+} 에 의한 수축은 Ca^{2+} 차단제인 verapamil 전처치에 의하여 일어나지 않았다. 이는 verapamil이 Ca^{2+} 유출통로를 통한 Ba^{2+} 의 이동을 억제시킬 수 있음을 시사하는 것이기는 하나 이에 대한 것은 더 연구해야 할 과제로 생각한다.

장관 평활근에서 Ba^{2+} 에 의한 수축은 신경말단을 파괴하거나 신경절 차단제를 전처치하면 수축이 억제된다는 보고들이 있다(Ambache, 1946; Feldberg, 1951). 그러나 Hansen등(1984)은 쥐의 대동맥에서 Mishra등(1988)은 쥐의 정관 평활근에서 prazosin을 처리한 경우나 reserpine으로 신경말단의 NE를 고갈시킨 후에 Ba^{2+} 에 의한 수축에 변화가 없음을 관찰하고 Ba^{2+} 에 의한 수축은 신경말단의 norepinephrine의 분비와는 관계없다고 보고하였다. 본 실험에서 Ba^{2+} 에 의한 수축이 교감신경 말단의 NE 유리와 관련이 있는지를 알아보기 위하여 phentolamine를 투여한 결과 40 mM K^+ 에 의한 수축은 부분적으로 억제되었으나 Ba^{2+} 에 의한 수축은 전혀 영향받지 않았다. 이는 가토 신동맥 평활근에서 Ba^{2+} 에 의한 수축은 신경말단의 norepinephrine 분비와는 관계가 없음을 의미한다.

세포외 K^+ 농도 변화가 Ba^{2+} 에 의한 혈관수축에 미치는 영향을 알아본 결과 세포외액의 K^+ 농도 증가에 의하여 Ba^{2+} 에 의한 수축은 농도의존적으로 감소되었는데 이는 세포외액의 K^+ 이 Ba^{2+} 에 의한 K^+ 통로의 억제 작용을 억제함(Vergara & Latorre, 1983; Benham et al, 1985)으로서 K^+ 의 유출이 증가되어 일어난 결과라고 생각된다. Ba^{2+} 에 의한 혈관 수축이 세포외액의 K^+ 에 의하여 억제되는 기전이 세포내의 Ca^{2+} 과 어떠한 연관이 있는지를 규명하고자 Ba^{2+} 에 의한 수축에 K^+ 14 mM을 투여한 결과 세포내의 Ca^{2+} 농도가 높을수록 세포외액의 K^+ (14 mM)에 의한 수축감소정도는 컸다(Fig. 11). 이러한 수축의 감소로 보아 K^+ 통로의 활성화는 세포내의 Ca^{2+} 농도 증가에 의존하는 것으로 생각된다. 혈관평활근의 세포막내에는 Ca^{2+} 에 의하여 조절되는 K^+ 통로(Walsh & Singer, 1980; Aaronson & Jones, 1985; Inoue et al, 1985; Benham et al, 1986; McCann & Welsh, 1986; Cecchi et al, 1986; Breges-

tovski et al, 1989)가 있음이 알려지고 있다. 따라서 Ba^{2+} 에 의한 가토 신동맥수축에 있어서도 Ca^{2+} -activated K^+ 통로가 Ba^{2+} 에 의한 막전압의 감소(저분극)기전에 중요한 역할을 하고 있음을 시사한다.

이상의 결과로 보아 가토 신동맥 평활근에서 Ba^{2+} 은 세포내에서 저장 Ca^{2+} 을 유리시킬 뿐 아니라 세포외로부터 Ca^{2+} 유입을 증가시켜 수축을 일으키며 Ca^{2+} -activated K^+ 통로를 억제하여 막전압을 감소시킬 수 있는 것으로 사료된다.

결 론

뉴질랜드 백색토끼의 신동맥 평활근에서 Ba^{2+} 에 의한 수축을 측정하여 그 작용을 검토하였는바 다음과 같은 결론을 얻었다.

1) Ba^{2+} 에 의한 수축은 농도-의존적으로 증가하였으며 최대수축은 K^+ 100 mM에 의한 수축의 $92.1 \pm 4.5\%$ 이었다.

2) 정상 Tyrode 용액에서 Ba^{2+} 이나 고농도 K^+ 을 반복투여시 Tachyphylaxis는 나타나지 않았다.

3) Ca^{2+} -free Tyrode 용액에서 고농도 K^+ 에 의한 수축은 일어나지 않았으나 Ba^{2+} 에 의한 수축은 일어났으며 부가적인 Ca^{2+} 투여로 수축은 증가하였다.

4) Ca^{2+} -free Tyrode 용액에서 Ba^{2+} 으로 수축을 반복시킬 경우 그 수축은 점차적으로 감소하였다.

5) Ba^{2+} 에 의한 수축은 세포내 Ca^{2+} 을 norepinephrine($10^{-5}M$)과 caffeine(20 mM)으로 고갈시킨 후에도 일어났다.

6) Ba^{2+} 에 의한 수축은 La^{3+} ($10^{-4}M$)이나 verapamil($10^{-6}M$) 전처치에 의하여 일어나지 않았다.

7) 고농도 K^+ 에 의한 수축은 phentolamine($10^{-5}M$)에 의하여 부분적으로 억제되었으나 Ba^{2+} 에 의한 수축은 phentolamine($10^{-5}M$)에 의해 억제되지 않았다.

8) 정상 Tyrode 용액에서 Ba^{2+} 에 의한 수축의 K^+ 에 의한 수축억제정도는 K^+ 농도에 비례하여 증가하였다.

9) Ba^{2+} 에 의한 수축의 K^+ (14 mM)에 의한 수축 억제정도는 세포내의 Ca^{2+} 농도가 높을수록 증가하였다.

이상의 결과로 보아 가토 신동맥 평활근에서 Ba^{2+} 은 세포내에서 저장 Ca^{2+} 을 유리시킬 뿐 아니라 세포외로부터 Ca^{2+} 유입을 증가시켜 수축을 일으키며 Ca^{2+} -activated K^+ 통로를 억제하여 막전압을 감소시킬 수 있는 것으로 사료된다.

REFERENCES

- Aaronson PI & Jones AW (1985). Calcium regulation of potassium fluxes in rabbit aorta during activation by noradrenaline or high potassium medium. *J Physiol* 367, 27-43
- Ambache N (1946). Interaction of drugs and the effect of cooling on the isolated mammalian intestine. *J Physiol (Lond)* 104, 266-287
- Antonio A, Rocha M, Silva Y & Yashuda Y (1973). The tachyphylatic effect of barium on intestinal smooth muscle. *Arch Int Pharmacodyn* 204, 260-267
- Benham CD, Bolton TB, Lang RJ & Takewaki T (1985). The mechanism of action of Ba^{2+} and TEA on single Ca^{2+} -activated K^+ channels in arterial and intestinal smooth muscle cell membranes. *Pflügers Arch* 403, 120-127
- Benham CD, Bolton TB, Lang RJ & Takewaki T (1986). Calcium-activated potassium channels in single smooth muscle cells of rabbit jejunum and guinea-pig mesenteric artery. *J Physiol* 371, 45-67
- Bohr DF (1963). Vascular smooth muscle: dual effect of calcium. *Science* 139, 597-599
- Bohr DF (1973). Vascular smooth muscle updated. *Circ Res* 32, 665-672
- Bregestovski PD, Bolotina VM & Serebryakov VN (1989). Fatty acid modifies Ca^{2+} -dependent potassium channel activity in smooth muscle cells from the human aorta. *Proc R Soc B* 237, 259-266
- Bülbring E & Tomita T (1969). Effects of calcium, barium and manganese on the action of adrenaline in the smooth muscle of guinea-pig taenia coli. *Proc R Soc B* 172, 121-136
- Cecchi XO, Alvarez O & Wolff D (1986). Characterization of Ca^{2+} -activated K^+ channel from rabbit intestinal smooth muscle incorporated into planar bilayer. *J Memb Biol* 91, 11-18
- Chao SH, Suzuki Y, Zyst JR & Cheung WY (1984). Activation of calmodulin by various metal cations as a function of ionic radius. *Mol Pharmacol* 26, 75-82
- 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
- Daniel EE (1963). On the role of calcium, strontium and barium in contraction and excitability of rat uterine muscle. *Archs Int Pharmacodyn Ther* 146, 298-349
- Deth R & van Breemen C (1977). Agonist induced release of intracellular Ca^{2+} in the rabbit aorta. *J Memb Biol* 30, 363-380
- Deth RC & Lynch C (1981). Mobilization of a common source of smooth muscle Ca^{2+} by norepinephrine and methylxanthines. *Am J Physiol* 240, C239-C247
- Ebashi S & Endo M (1968). Calcium ion and muscle contraction. *Prog Biophys Molec Biol* 18, 123-183
- Ebeigbe AB & Aloamaka CP (1987). Mechanism of contractile action of barium ion on rat aortic smooth muscle. *Can J Physiol Pharmacol* 65, 2454-2458
- Feldberg W (1951). Effects of ganglionic blocking substances on the small intestine. *J Physiol (Lond)* 113, 483-505
- Godfraind T & Kaba A (1972). The role of calcium in the action of drugs on vascular smooth muscle. *Arch Int Pharmacodyn Ther* 196 (Suppl), 35-49
- Hamilton TC, Weir SW & Weston AH (1986). Comparison of the effects of BRL 34915 and verapamil on electrical and mechanical activity in rat portal vein. *Br J Pharmacol* 88, 103-111
- Hansen TR, Dineen DX & Petrak R (1984). Mechanism of action of barium ion on rat aortic smooth muscle. *Am J Physiol* 246, C235-C241
- Hara Y, Kitamura K & Kuriyama H (1980). Action of 4-aminopyridine on vascular smooth muscle tissues of the guinea-pig. *Br J Pharmacol* 68, 99-106
- Hai CM & Murphy RA (1987). Ba^{2+} induced contraction in swine carotid artery by mobilizing intracellular Ca^{2+} . *Am J Physiol* 252, C378-C384
- Hermesmeyer K (1976). Ba^{2+} and K^+ alteration of K^+ conductance in spontaneously active vascular muscle. *Am J Physiol* 230(4), 1031-1036
- Hof RP, Quast U, Cook NS & Blarer S (1988). Mechanism of action and systemic and regional hemodynamics of the potassium channel activator BRL 34915 and its enantiomers. *Circ Res* 62, 679-686

- Hotta Y & Tsukui K (1968). Effect on the guinea-pig taenia coli of the substitution of strontium and barium ions for calcium ions. *Nature* 217, 867-869
- Inomata H & Kao CY (1985). Action of Ba^{2+} on ionic currents of guinea-pig taenia coli. *J Pharmacol Exp Ther* 233, 112-124
- Inoue R, Kitamura K & Kuriyama H (1985). Two Ca-dependent K-channels classified by the application of tetraethylammonium distribute to smooth muscle membranes of the rabbit portal vein. *Pflügers Arch* 405, 173-179
- Karaki H, Ikeda M & Urakawa N (1967). Effects of external calcium and some metabolic inhibitors on barium-induced tension changes in guinea-pig taenia coli. *Jap J Pharmac* 17, 603-612
- Karaki H, Ikeda M & Urakawa N (1969). Movements of calcium during tension development induced by barium and high-potassium in guinea-pig taenia coli. *Jap J Pharmac* 19, 291-299
- Karaki H, Kubota H & Urakawa N (1979). Mobilization of store calcium for phasic contraction induced by norepinephrine in rabbit aorta. *Eur J Pharmac* 56, 237-245
- Karaki H, Satake N & Shibata S (1986). Mechanism of barium-induced contraction in the vascular smooth muscle of rabbit aorta. *Br J Pharmacol* 88, 821-826
- Keatinge WR (1972). Mechanical response with reversed electrical response to noradrenaline by Ca-deprived arterial smooth muscle. *J Physiol (London)* 224, 21-34
- Leijten AA & van Breemen C (1984). The effects of caffeine on the noradrenaline-sensitive calcium store in rabbit aorta. *J Physiol* 357, 327-339
- MaCann JD & Welsh MJ (1986). Calcium-activated potassium channels in canine airway smooth muscle. *J Physiol* 372, 113-127
- Mishra SK, Das PK & Sanyal AK (1988). Barium-induced contraction of rat vas deference in calcium-free solution. *Arch Int Pharmacodyn* 294, 85-98
- Nasu T & Urakawa N (1973). Effect of cholinergic drugs on calcium movement in guinea pig taenia coli. *Jpn J Pharmacol* 23, 553-561
- Northover BJ (1968). The effect of drugs on the constriction of isolated depolarized blood vessels in response to calcium or barium. *Br J Pharmacol* 34, 417-428
- Suzuki T, Nishitama A & Okamura K (1964). The effects of barium ion on the resting and action potential of intestinal smooth muscle cells. *Tohoku J Exp Med* 82, 87-92
- Uvelius B, Sigurdsson SB & Johansson B (1974). Strontium and barium substitutes for calcium on electrical and mechanical activity in rat portal vein. *Blood Vessels* 11, 245-259
- Vergara C & Latorre R (1983). Kinetics of Ca^{2+} -activated K^+ channels from rabbit muscle incorporated into planar bilayers. *J Gen Physiol* 82, 543-568
- Walsh JV & Singer JJ (1980). Penetration-induced hyperpolarization as evidence for Ca^{2+} activation of K^+ conductance in isolated smooth muscle cells. *Am J Physiol* 239, C182-C189
- Weiss GB (1974). Cellular pharmacology of lanthanum. *Annu Rev Pharmacol* 14, 343-354