

α_2 - Adrenoceptor Agonists의 흰쥐 대동맥 이완 작용

조인국, 이상우, 강형섭, 서형석¹, 김진상*

전북대학교 생체안전성연구소
(게재승인: 2003년 7월 10일)

Relaxant Actions of α_2 - Adrenoceptor Agonists in Rat Aorta

In-gook Cho, Sang-woo Lee, Hyung-sub Kang, Heyng-seok Seo¹ and Jin-shang Kim²

Bio-Safety Research Institute, Chonbuk National University, Jeonju 561-756, Korea

¹Chonbuk Livestock and Veterinary Research Institute, Jeonju 561-756, Korea

(Accepted: July 10, 2003)

Abstract: The vasorelaxant actions and blood pressure lowering of the α_2 -adrenoceptor agonists (α_2 -AAs) clonidine and xylazine were investigated in rat isolated aortic rings and anesthetized rats. Both clonidine and xylazine produced a concentration-dependent inhibition of the sustained contraction induced by norepinephrine (NE), but not by KCl. NE-induced contractions were attenuated partly by nifedipine or verapamil, voltage dependent Ca^{2+} channel blockers. These Ca^{2+} channel blockers-resistant contractions were abolished by clonidine or xylazine. Inhibitory effects of α_2 -AAs on contractions could be reversed by ryanodine, an intracellular Ca^{2+} transport blocker, and tetrabutylammonium (TBA), a Ca^{2+} activated K^+ channel blocker, but not by nifedipine, glibenclamide or removal of extracellular Ca^{2+} and endothelium. Moreover, α_2 -AAs produced relaxation in NE-precontracted isolated intact aortic rings in a concentration-dependent manner, but not in KCl-precontracted rings. The relaxant effects of α_2 -AAs were inhibited by ryanodine and TBA, but not by nifedipine, glibenclamide, N (G)-nitro-L-arginine (L-NNA), N(omega)-nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME), aminoguanidine (AG), 2-nitro-4-carboxyphenyl N,N-diphenylcarbamate (NCDC), lithium sulfate, staurosporine or removal of extracellular Ca^{2+} and endothelium.

In vivo, infusion of xylazine elicited significant decrease in arterial blood pressure. This xylazine-lowered blood pressure was completely inhibited by the intravenous injection of TBA, but not by the intravenous injection of glibenclamide, L-NNA, L-NAME, AG, nifedipine, lithium sulfate or saponin. These findings showed that the receptor-mediated and α_2 -adrenoceptor A-stimulated endothelium-independent vasorelaxant effect may be explained by decreasing intracellular Ca^{2+} release and activation of Ca^{2+} -activated K^+ channels, which may contribute to the hypotensive effects of α_2 -AAs in rats.

Key words: α_2 -adrenoceptor agonists, vasorelaxant effect, blood pressure, ryanodine, aorta

서 론

교감신경 활성화는 α -adrenoceptor (AR)의 작용으로 직접적인 혈관수축을 일으킨다. 교감신경 자극은 물론 약물에 의한 α_1 과 α_2 -AR의 활성화는 혈관수축을 일으킴이

특징적이다 [8, 30]. 혈관에서 접합 후 α_1 과 α_2 -AR 활성화는 혈관 평활근 수축에 의한 혈압상승이 일어나고, 혈관에 이들 수용체의 적절한 분포에 의하여 혈관의 긴장도를 유지한다 [12]. 대동맥이나 대정맥은 상기 두 수용체에 의하여 조절되고 있지만 말초혈관은 주로 α

* Corresponding author: Jin-shang Kim

Department of Pharmacology, College of Veterinary Medicine, Chonbuk National University, Jeonju 561-756, Korea
Tel: +82-63-270-2554, Fax: +82-63-270-3780, E-mail: kimjs@chonbuk.ac.kr

α_2 -AR에 의하여 조절된다 [12]. 혈관에서 α_2 -AR는 접합 후 수용체에 작용으로 혈관이 수축된다. α_1 -AR 자극에 의한 수축은 수용체 자극 신호전달계를 경유한 세포내 저장소로부터 Ca^{2+} 유리에 의하여 이루어지나 α_2 -AR 자극에 의한 수축은 전적으로 전압 의존성 Ca^{2+} 통로 차단제에 민감한 세포의 Ca^{2+} 유입에 의존적이다 [11]. 이러한 점에서 α_2 -AR 효현제가 기립성 저혈압에 치료제로 쓰일 수 있어 [26] 이들 임상적 적용에 의한 일시적인 혈압상승은 상기 기전에 의하여 설명할 수 있다. 또한 α_2 -AR 자극은 접합전 수용체로 신경말단에서 NE 유리를 억제함으로 혈압하강제로 쓰여왔으며 α_2 -AR 효현제인 clonidine는 중추성으로 교감신경 기능을 억제함으로 유용한 고혈압치료제이다 [31]. 특히 xylazine은 진정·진통·근이완 효과가 있으며 다른 마취제에 비하여 부작용이 없어 수의 임상에서 가장 많이 사용되고 있는 마취제로 [23] 심맥관계 부작용으로는 서맥, 심부전 및 일시적인 혈압상승과 지속적인 혈압하강이다 [13, 20, 33]. 혈압상승 역시 clonidine처럼 말초혈관 접합후 α_2 -AR 수용체의 작용에 의한 혈관 평활근 수축에 의하며 [22], 혈압하강 또는 항고혈압 작용은 중추 및 접합전 α_2 -AR 활성화에 의한 교감신경 기능 억제에 의한다고 [9, 21] 하였다. 이전의 연구 보고에 의하면 동물 종 및 혈관 종류에 따라 α_2 -AR 자극에 의한 혈관수축 또는 이완의 상반 효과가 [16-18, 25, 28] 나타남을 보였을 뿐 아니라 혈관이완에 대한 연구 보고는 비교적 부족하다. 몇몇 연구자에 의하여 α_2 -AR 효현제인 xylazine이나 clonidine이 동맥 및 대동맥에서 이완 효과에 대하여 보고되었을 [2, 3, 5, 16, 25, 28] 뿐 중추적 NE 유리억제에 의한 혈압하강 이외의 혈압하강 기전이 보고된 바 없다. 혈압은 중추적 및 심맥관계 등의 많은 영향을 받고 있으며 그 중 혈관에 대한 작용은 혈압에 직접적으로 영향을 미칠 것이다. 몇몇 연구에서 α_2 -AR 효현제들에 의한 혈관이완 기전을 다양하게 그리고 α_2 -AR 효현제의 혈관내 작용 등을 보고하였으나 α_2 -AR 효현제에 의한 혈관이완과 혈압하강 기전 및 관련성을 설명하지 못하였다. 따라서 이 연구에서는 α_2 -AR의 혈관이완 기전을 규명하고 중추적 작용 이외의 혈압하강 작용과의 관계를 규명하고자 하였다.

재료 및 방법

혈관 적출 및 수축력 측정

수컷 흰쥐 (Sprague-Dawley, 250~300 g)를 두부를 타격하여 방혈시킨 후 흉부 대동맥을 적출하여 30°C의 산소포화 영양액 (133.0 mM NaCl, 5.0 mM KCl, 2.5 mM $CaCl_2$, 1.2 mM $MgSO_4$, 1.0 mM KH_2PO_4 , 11.0 mM glucose 및 12.0

mM $NaHCO_3$ 과 95% O_2 : 5% CO_2 , pH 7.3~7.4)으로 혈액을 제거한 다음 실험현미경하에서 지방 및 결합 조직편을 제거하고 절단하였다. 길이 약 2~3 mm으로 절단된 한 개의 혈관 고리를 상기 영양액이 관류 (4±0.5 ml/min)되는 tissue chamber내에 직경 50 μ m 고정핀에 고정하고 한쪽은 직경 25 μ m 은선에 연결된 고리에 연결한 후 tension transducer (400A, Cambridge)에 연결하였다. 연결 후 250~300 μ g의 장력 (정지 장력)을 준 후 안정되면 등장성 40~70 mM KCl의 영양액을 20~30분간 1~2회 관류시켜 장력을 안정시켰다. 이 장력의 변동은 recording system (Gould, 3400)을 이용하여 기록하였다.

약물처리 및 내피제거

혈관 수축 시험시 상기와 같이 고농도 KCl로 안정시킨 후 적정농도의 NE 또는 phenylephrine (PE) 함유 영양액을 관류시켜 최고 수축력이 도달할 때까지 반복하였다. 그 후 제반 약물을 적정 시간 관류 후 NE 또는 PE의 수축력을 측정하여 비교 분석하였다. 혈관 이완 시험시에도 수축 시험시와 비슷하게 처치하였고, 단지 NE를 투여하여 수축력이 일정해지면 α_2 -AR 효현제를 처치하여 그 이완효과를 관찰하였다. NE 수축에 대한 α_2 -AR 효현제의 효과 및 α_2 -AR 효현제에 의한 이완효과에 미치는 약물은 30~50분 동안 전 처치 후 그 효과를 관찰하였다. α_2 -AR 효현제의 이완효과는 혈관을 수축시키는 NE의 농도에 따라 영향 받을 수 있기 때문에 각종 약물들의 전 처치 시에도 수축력의 크기에 관계없이 NE의 농도를 일정하게 하였다. 내피를 제거할 경우 정지 장력을 복귀시킨 후 saponin (0.3 mg/ml)을 영양액에 녹여 12-15분간 관류시켜 내피를 제거하고 다시 정지 장력을 비슷한 정도로 하였다. 내피 존재 유무는 0.5 μ M의 acetylcholine을 투여하여 이완 여부로 확인하였다. 약물의 전처리 시간은 다음과 같다. TBA, glibenclamide, Ca^{2+} free 영양액, nifedipine, verapamil, ryanodine, NCDC 및 lithium은 30분, staurosporine은 40분, L-NNA, L-NAME 및 aminoguanidine은 50분이었다.

혈압 측정

실험동물을 urethane으로 마취하고, 체온 유지를 위해 hot plate에 고정한 후 약 20분 동안 안정시켰다. 기도 유지를 위해 기관에 catheter를 삽입하여 고정하고 ventilator로 호흡을 유지하였다. 혈관내 약물을 투여하기 위해 왼쪽 목 정맥에 관을 삽입하여 고정하였고, 혈압을 측정하기 위해 대퇴동맥에 관을 삽입하여 고정하고 생리 기록계를 연결하였다. 동맥에 삽입한 관에는 heparin (1000 IU/ml)이 함유된 생리식염수를 채워서 혈액응고를 억제하였다. 혈압이 안정되면 α_2 -AR 효현제에 의한 혈압 변동을 관찰하였

다. 한 개체에서 α_2 -AR 효현제의 연속 투여시 반복 투여에 의한 2차 혈압 반응은 증가함으로 새로운 개체에서 혈압을 다시 측정하였다. 제반 약물의 효과는 전 처치 후 혈압이 안정되면 α_2 -AR 효현제를 투여하여 혈압 반응을 관찰하였다. 생체내에서 α_2 -AR 효현제의 혈압하강 효과에 대한 혈관내피세포의 영향을 관찰하기 위하여 saponin을 투여하여 내피를 제거하였다. 내피 존재 유무는 혈압 관찰 후 혈관을 적출하여 상기 방법에 준하여 대동맥에서 acetylcholine의 이완반응 여부를 관찰하여 판정하였다.

사용 약물 및 통계처리

Clonidine, xylazine, glibenclamide, lithium sulfate, heparin, acetylcholine, saponin, phenylephrine, nifedipine, verapamil, ryanodine, L-N^G-nitro-arginine methyl ester (L-NAME), yohimbine, L-N^G-nitro-arginine (L-NNA), 2-nitro-4-carboxyphenyl-n, n-diphenylcarbamate (NCDC), aminoguanidine 및 staurosporine은 Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, USA)로부터 구입하여 사용하였다. 실험성적은 mean \pm SD로 나타냈고, 각 실험 결과의 유의성은 Student's *t*-test에 의해 검정하였다.

결 과

농도 별 α_2 -AR 효현제가 NE 및 고농도 KCl의 수축력에 미치는 영향

내피가 존재한 혈관에서 수축력이 안정된 후 0.2 μ

M NE의 최고 수축력을 측정하였다 (control, 100%). NE를 제거하고 20분간 혈관을 안정시킨 후 적정농도의 clonidine 또는 xylazine를 30분간 투여한 후 다시 동량의 NE 최고 수축력을 측정하여 α_2 -AR 효현제가 존재하지 않은 상태에서의 수축력 (100%)에 대한 수축력 억제 정도로 표시하였다. α_2 -AR 효현제 0.01~100 μ M 존재하에서 α_2 -AR 효현제 농도 의존적으로 NE에 의한 수축력이 억제되었다 (Fig. 1A). 그러나 70 mM KCl에 의한 수축력은 α_2 -AR 효현제인 xylazine에 의하여 억제되지 않았다 (Fig. 1B).

각종 약물이 α_2 -AR 효현제의 수축력 억제 효과에 미치는 영향

α_2 -AR 효현제가 존재하지 않은 상태에서의 NE 및 PE 수축력 (100%)에 대해서 α_2 -AR 효현제가 존재한 상태에서 수축력의 정도를 %로 표시하였다. 10 μ M clonidine 존재하에서 NE에 의한 수축력은 현저히 억제되었다. 이 억제가 세포내 Ca²⁺ 수송 억제제인 10 μ M ryanodine 또는 Ca²⁺ activated K⁺ 통로 억제제인 1 mM TBA에 의하여 유의성 있게 회복되었으나 glibenclamide, nifedipine 함유 영양액하에서 또는 extracellular Ca²⁺ 제거하거나 혈관내피를 제거 (saponin에 의한 제거)한 혈관에서는 clonidine에 의한 NE 수축력 억제가 회복되지 않았다 (Fig. 2A). 역시 PE에 의한 수축력도 xylazine에 의하여 억제되었으며 이 억제 효과 역시 상기 약물들에 의하여 비슷한 경향으로 회복되거나 회복되지 않았다 (Fig. 2B).

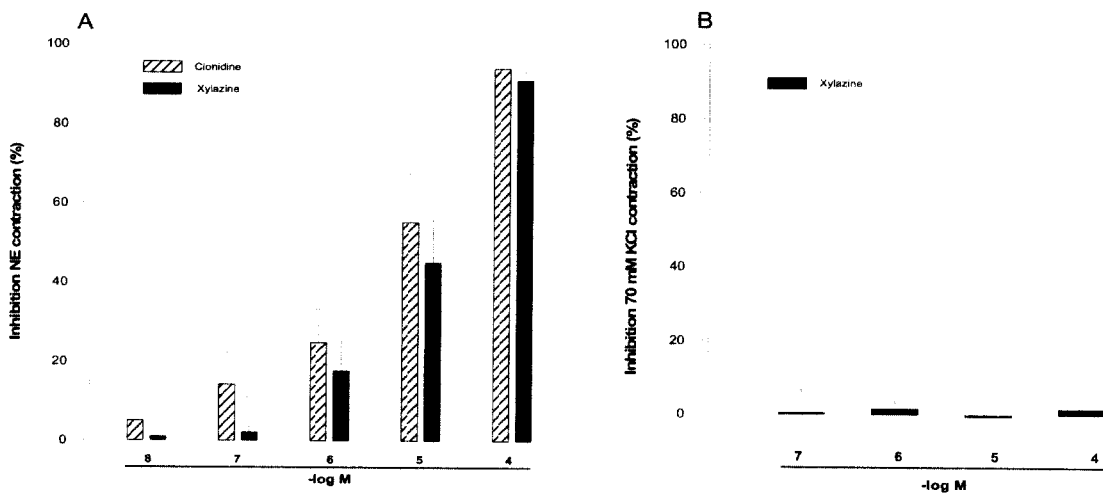


Fig. 1. Concentration-dependent inhibition of 0.2 μ M norepinephrine (NE, A)-induced maximum contraction by clonidine or xylazine and effects of xylazine on 70 mM KCl (B)-induced contraction in endothelium-intact (+E) rat aortic single rings. Data are expressed as inhibition (%) of NE or KCl-induced maximum contraction and represent the means \pm SD; n=5~6.

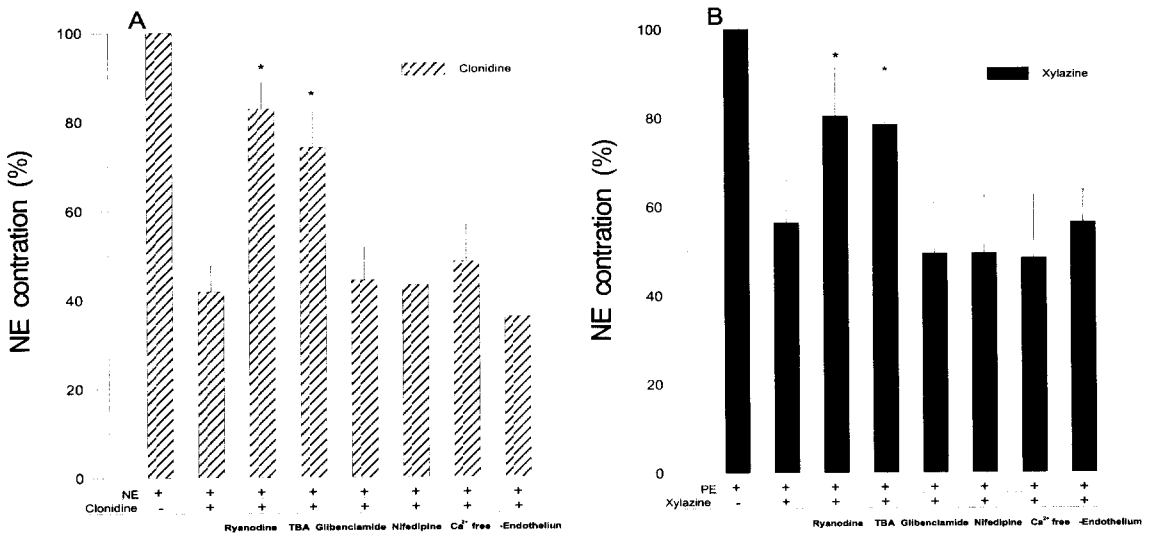


Fig. 2. Effects of 10 μ M clonidine (A) or 10 μ M xylazine (B) on NE- (A) or phenylephrine (PE, B)-induced contraction in the absence and presence of 10 μ M ryanodine, 1 mM TBA, 100 μ M glibenclamide, 0.5 μ M nifedipine, extracellular Ca²⁺ or endothelium. Data are expressed as the percentage of the maximum response to NE or PE and represent the means \pm SD. *p<0.01 compared with control (+clonidine or +xylazine); n=5.

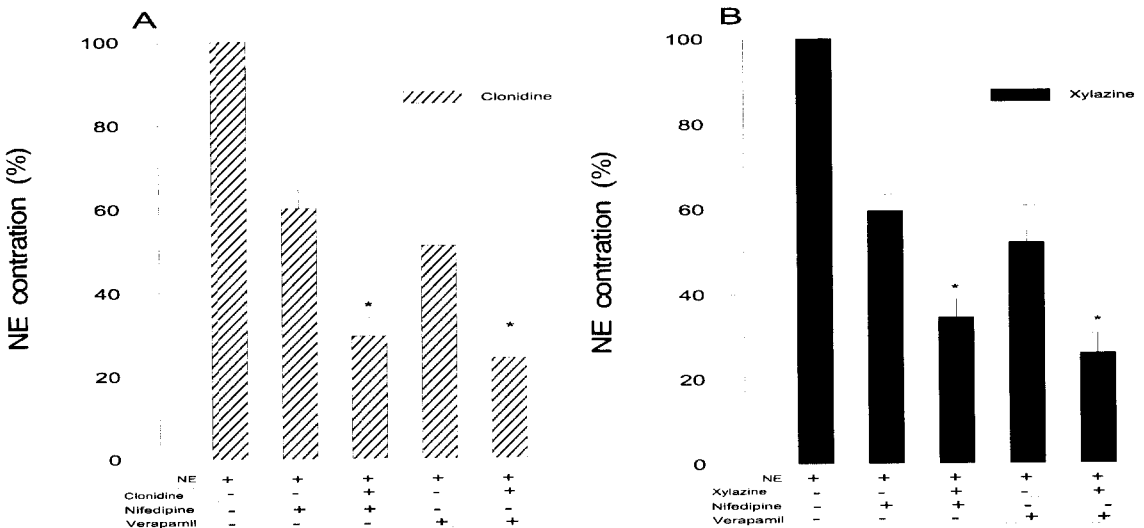


Fig. 3. Effects of α_2 -adrenoceptor agonists (A, 3 μ M clonidine; B, 3 μ M xylazine) and/or Ca²⁺ channel blockers (1 μ M nifedipine, 5 μ M verapamil) on the 0.1 μ M NE-induced contraction in +E rings. Data are expressed as the percentage of the maximum response to NE and represent the means \pm SD. *p<0.01 compared with control (+nifedipine or +verapamil); n=4~5.

NE 수축력에 미치는 전위 의존성 Ca²⁺ 통로 억제제와 α_2 -AR 효현제의 영향

고농도 KCl에 의한 수축은 막전위 의존성임으로 전위 의존성 Ca²⁺ 통로 억제제에 의하여 현저히 억제되지만 NE

및 PE와 같은 수용체 효현제에 의한 수축은 막전위에 비 의존적임으로 전위 의존성 Ca²⁺ 통로 억제제에 의하여 부분적으로 억제된다. NE에 의한 수축력이 전위 의존성 Ca²⁺ 통로 억제제인 1 μ M nifedipine 또는 5 μ M verapamil에 의

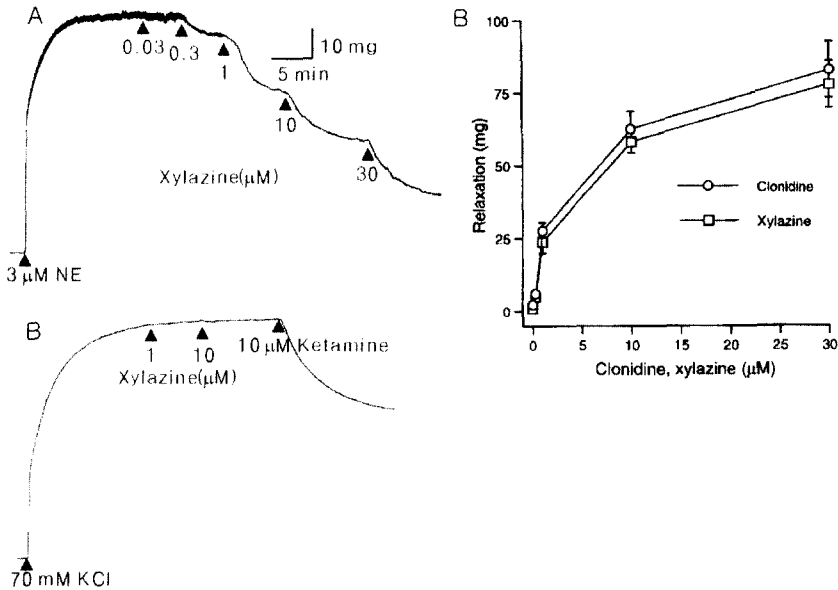


Fig. 4. Typical tracings (A) and the data summary (B) of the relaxant effects of clonidine and xylazine concentration on 3 μ M NE- (A) or 70 mM KCl (B)-precontracted +E rings. Concentrations of clonidine and xylazine were added directly to the perfusate. B: each point represents means \pm SD expressed as tension (mg) of clonidine- or xylazine- induced relaxation; n=4.

하여 부분적으로 억제되었으며, 이와 같이 억제되지 않은 수축력이 3 μ M xylazine 및 3 μ M clonidine에 의하여 유의성 있게 억제되었다 (Fig. 3A, B). 따라서 α_2 -AR 효현제에 의한 혈관수축 억제는 전위 의존성 Ca^{2+} 통로를 경유한 Ca^{2+} 유입 억제 이외 또 다른 Ca^{2+} 유입기전이 있거나 Ca^{2+} 비의존적인 수축을 억제할 수 있음을 의미한다.

α_2 -AR 효현제의 혈관이완 효과

내피가 존재한 혈관에서 NE로 수축시킨 후 농도 별 xylazine 처치는 현저하게 혈관을 이완시켰다 (Fig. 4A). Clonidine 역시 xylazine과 유사하게 농도 의존적 혈관이완을 일으켰고 이 이완 효과가 α_2 -AR 길항제인 yohimbine에 의하여 억제되었으나 부분적이었다 (자료 미제시). 그러나 고농도 KCl 수축 혈관을 이완시키지 못했다. 이는 상기와 같이 NE 수축에 대한 α_2 -AR 효현제의 억제 효과와 유사하게 이완효과로 나타났다.

Ryanodine과 TBA이 α_2 -AR 효현제의 혈관이완에 미치는 영향

상기 Fig. 2에서 α_2 -AR 효현제의 NE 및 PE의 의한 수축력 억제가 ryanodine 또는 TBA에 의하여 회복되어 α_2 -AR 효현제에 의한 수축력 억제는 세포내로부터의 Ca^{2+} 유리억제 또는 Ca^{2+} -activated K^+ 통로 활성화 등과 같

은 작용에 의한 결과로 추측할 수 있다. 역시 10 μ M clonidine 단일 농도 처리에 의한 혈관이완 정도가 5 μ M ryanodine 전처리에 의하여 현저히 억제되었다 (Fig. 5A). 이들 결과를 종합한 결과 α_2 -AR 효현제에 의한 이완 효과가 ryanodine 또는 TBA에 의하여 유의성 있게 억제되었다 (Fig. 5B). 이는 α_2 -AR 효현제의 혈관이완 효과에 ryanodine-선택적 Ca^{2+} 유리 억제 및 Ca^{2+} -activated K^+ 통로 활성화가 관여한다고 할 수 있다.

각종 약물, Ca^{2+} 제거 및 혈관 내피 제거가 α_2 -AR 효현제의 혈관이완에 미치는 영향

혈관이완은 다양한 기전에 의하여 일어날 수 있다. 따라서 다음과 같은 약물 및 조건에서 α_2 -AR 효현제에 의한 이완효과를 관찰하였다. α_2 -AR 효현제에 의한 이완효과는 glibenclamide, L-NNA, L-NAME, aminoguanidine 및 nifedipine를 전처리하거나 세포외의 Ca^{2+} 제거 (Ca^{2+} -free 영양액) 및 혈관내피 제거 (-E)에 의하여 억제되지 않았다 (Fig. 6).

NCDC, lithium 및 staurosporine이 α_2 -AR 효현제의 혈관이완에 미치는 영향

혈관이완 기전으로 phospholipase C (PLC) 억제를 통한 IP_3 (inositol triphosphate) 생성 억제 또는 protein kinase C

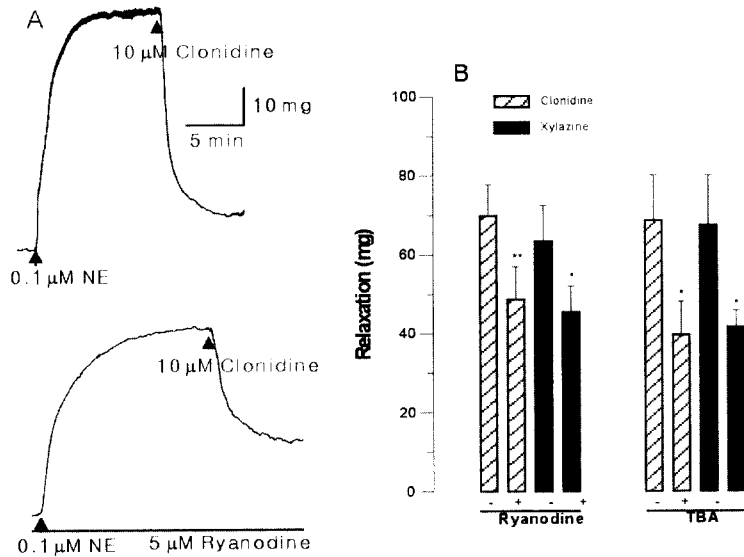


Fig. 5. Effects of ryanodine and tetrabutylammonium (TBA) on the relaxation by clonidine or xylazine in +E rings. A: relaxant effect of clonidine and inhibitory effect of ryanodine on the clonidine-induced relaxation. B: data summary of the effects of 5 μ M ryanodine and 1 mM TBA on the relaxation by 10 μ M clonidine or 10 μ M xylazine. Each bar represents means \pm SD expressed as tension (mg). * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ compared with -ryanodine or -TBA; $n = 5 \sim 6$.

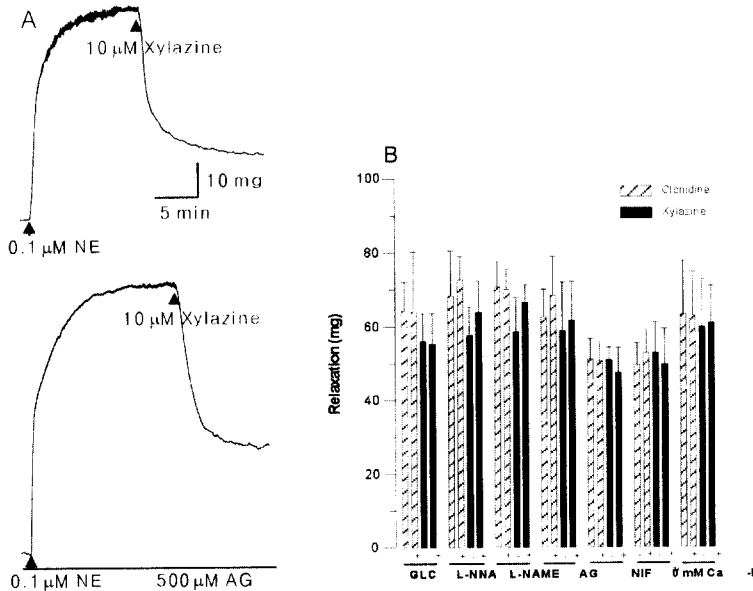


Fig. 6. Effects of chemicals, removal of extracellular Ca^{2+} and endothelium denudation (-E) on the relaxation by clonidine or xylazine in +E rings. A: relaxant effect of 10 μ M xylazine in the absence and presence of 500 μ M aminoguanidine (AG). B: data summary of the effects of GLC (100 μ M, glibenclamide), L-NNA (10 μ M), L-NAME (100 μ M), AG (500 μ M), NIF (0.5 μ M, nifedipine), removal of extracellular Ca^{2+} (0 mM Ca^{2+}) and -E on the relaxation by 10 μ M clonidine or 10 μ M xylazine. Each bar represents means \pm SD expressed as tension (mg); $n = 4 \sim 5$.

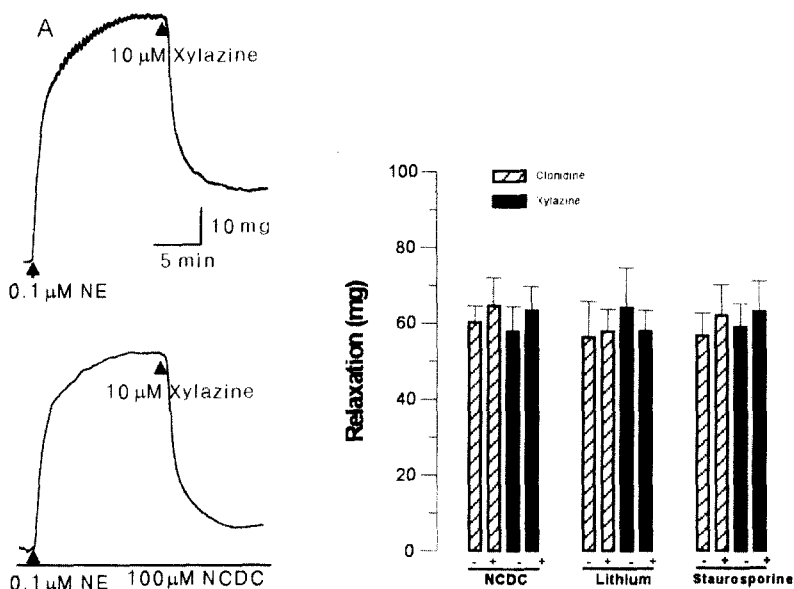


Fig. 7. Typical tracings (A) and the data summary (B) of the effects of phospholipase C inhibitor (100 μ M NCDC), inositol monophosphatase inhibitor (50 μ M lithium) and protein kinase C inhibitor (1 μ M staurosporine) on the relaxation by clonidine or xylazine in NE-precontracted +E rings. Each bar represents means \pm SD expressed as tension (mg); n=5.

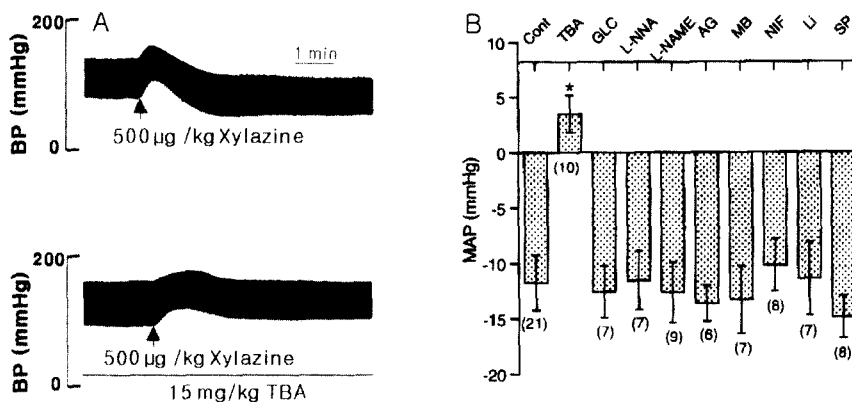


Fig. 8. Typical tracing (A) and the data summary (B) of the effects of TBA (15 mg/kg), glibenclamide (GLC, 5 mg/kg), L-NNA (3 mg/kg), L-NAME (5 mg/kg), aminoguanidine (AG, 10 mg/kg), methylene blue (MB, 15 mg/kg), nifedipine (NIF, 150 μ g/kg), lithium (Li, 15 mg/kg) and saponin (SP, 15 mg/kg) on the xylazine (Cont, 500 μ g/kg)-induced decrease in femoral mean arterial blood pressure (MAP) in anesthetized rats. Each bar represents means \pm SD expressed as mmHg of decrements of MAP. *p<0.001 compared with CON; n=6-21.

(PKC) 활성 억제제이다. 그러나 NE로 수축시킨 내피 존재 혈관에서 PLC인 억제제인 100 μ M NCDC, inositol monophosphatase inhibitor인 50 μ M lithium 또는 PKC 억제제인 1 μ M staurosporine에 의하여 xylazine 및 clonidine에 의한 혈관 이완효과는 억제되지 않았다 (Fig. 7).

α_2 -AR 효현제에 의한 혈압 하강 효과 및 혈압 하강 억제

상기 in vitro 실험에서 α_2 -AR 효현제는 수용체 효현제에 의한 혈관 수축을 억제시켰고 이 억제 효과가 ryanodine 및 TBA에 의하여 회복되었을 뿐만 아니라 α_2 -AR 효현제 역시 혈관을 이완시켰다. 이 혈관 이완효과 역

시 상기 두 약물에 의하여 억제되어 상기 두 조건에서 유사한 결과를 얻었다. 이와 같이 α_2 -AR 효현제에 의한 혈관 이완효과 및 이완 기전이 혈압 조절과 관련되는지를 시험하였다. 마취한 흰쥐에서 xylazine (0.5 mg/kg, i.v.) 투여에 의하여 일시적인 혈압상승 후 지속적인 혈압 하강효과가 관찰되었다. TBA (15 mg/kg) 투여에 의하여 혈압 상승 효과가 나타났으며 xylazine의 일시적인 혈압상승 효과는 억제되지 않았으나 혈압 하강효과는 억제되었다 (Fig. 8A). 그러나 xylazine에 의한 혈압 하강효과는 glibenclamide, L-NNA, L-NAME, aminoguanidine, nifedipine, methylene blue, lithium 및 saponin 전처리에 의해서는 억제되지 않았다 (Fig. 8B). 역시 clonidine에 의한 효과도 xylazine에서의 유사하게 관찰되었다 (자료 미제시).

고 찰

평활근 수축은 수용체 경유 및 전압 의존성 Ca^{2+} 통로의 활성화에 의한다 [19, 29]. NE와 같은 수용체 효현제에 의한 혈관 평활근 수축은 주로 수용체 자극 경로를 경유한 Ca^{2+} 통로의 개방에 의한 세포의 Ca^{2+} 의 세포내로의 유입, 세포내 저장소로부터의 Ca^{2+} 유리 [27] 및 비선택적 양이온 통로를 경유한 Ca^{2+} 유입 (Ca^{2+} permeable non-selective cation channel)에 [19, 24] 의한다. 그리고 고농도 KCl에 의한 수축은 세포막 전위 의존성 Ca^{2+} 통로 개방에 의한 세포의 Ca^{2+} 유입에 의한다 [15]. 이 연구에서 수용체 자극에 의한 수축이 α_2 -AR 효현제에 의하여 억제되었으나 KCl에 의한 수축은 억제하지 못하였다. 또한 수용체 자극에 의한 혈관 수축 후 α_2 -AR 효현제에 의하여 이완되었으나 KCl에 의한 혈관 수축 후에는 α_2 -AR 효현제에 의하여 이완되지 않았다. 따라서 흰쥐 대동맥에서 α_2 -AR 자극은 혈관 평활근을 이완시킬 수 있으며 이 이완 효과가 수용체를 경유한 Ca^{2+} 조절에 의함을 추측할 수 있다. 그러나 α_2 -AR 효현제에 의한 NE 수축 억제효과가 L-type Ca^{2+} 통로 억제제 또는 세포막 Ca^{2+} 제거에 의하여 회복되지 않았을 뿐만 아니라 α_2 -AR 효현제에 의한 혈관 이완효과 역시 L-type Ca^{2+} 통로 억제제 또는 세포막 Ca^{2+} 제거에 의하여 억제되지 않았다. 이와 같은 결과에 의하면 α_2 -AR 효현제에 의한 혈관이완은 세포내 저장소로부터 Ca^{2+} 유리 억제 또는 비선택적 양이온 통로 억제 등에 의한다고 할 수 있다. 이를 뒷받침하는 결과로써, NE에 의한 혈관수축이 L-type Ca^{2+} 통로 억제제인 nifedipine 및 verapamil에 의하여 일부 억제되었고 그 억제되지 않은 일부 수축효과가 α_2 -AR 효현제에 의하여 억제되었다. 이 결과

에 의하면 α_2 -AR 효현제는 L-type Ca^{2+} 통로 억제와 무관한 다른 혈관수축 기전을 억제할 수 있음을 의미한다. 즉, α_2 -AR 효현제는 비선택적 양이온 통로를 경유한 Ca^{2+} 유입 억제 등의 효과가 있을 수 있다. 또한 이 연구에서 α_2 -AR 효현제에 의한 NE 수축 억제 및 α_2 -AR 효현제의 이완효과가 SR (sarcoplasmic reticulum)에서 Ca^{2+} 유리 억제 (고농도)제인 ryanodine에 의해 회복되거나 억제되어 혈관 평활근에서 α_2 -AR 효현제는 Ca^{2+} 유리를 억제하여 이완시킬 수 있고, 혈관 이완기전 중 하나가 K^+ 통로 활성화에 의한 과분극이다 [6]. α_2 -AR 효현제의 혈관 이완효과는 물론 혈압 하강효과가 Ca^{2+} -활성 K^+ 통로 억제제인 TBA에 의해서도 회복되거나 억제되어 α_2 -AR 효현제에 의한 혈관 이완효과가 Ca^{2+} -활성 K^+ 통로 활성을 통한 저분극으로 Ca^{2+} 유입 억제에 의한 결과일 수 있음을 추측할 수 있다. 그러나 α_2 -AR 효현제에 의하여 Ca^{2+} -활성 K^+ 통로 활성화에 의한 Ca^{2+} 유입을 억제하는지 또는 직접적으로 Ca^{2+} -활성 K^+ 통로 활성화에 의한 K^+ 유출에 의한 결과인지는 이 실험 결과에 의해서는 알 수 없었다. TBA와는 다르게 ATP-선택적 K^+ 통로 억제제는 α_2 -AR 효현제에 의한 NE 수축 억제 및 α_2 -AR 효현제의 이완효과를 회복시키거나 억제시키지 않아 α_2 -AR 효현제에 의한 혈관 이완효과는 Ca^{2+} 관련 K^+ 통로와 관련이 있음을 알 수 있었다. 물론 TBA는 대동맥 평활근에서 Ca^{2+} -활성 K^+ 통로 뿐만 아니라 ATP-선택적 K^+ 통로도 억제한다고 [14] 하였으나 이 실험에서는 선택적인 glibenclamide에 의해서는 회복 및 억제효과가 없어 α_2 -AR 효현제의 이완효과는 단지 Ca^{2+} -활성 K^+ 통로 조절과 관련이 있음을 알 수 있다.

흰쥐 및 토끼 대동맥에서 선택 α_2 -AR 효현제인 clonidine와 xylazine은 α_2 -AR 길항제인 yohimbine과 β -수용체 길항제인 propranolol 존재하에서 농도 의존적으로 이완시키는데 이는 α_1 -AR에 친화력 가능성을 제시하였다 [5]. 그러나 이 친화력에 의해 α_2 -AR 효현제는 α_1 -AR에 의한 혈관수축을 억제하여 이완시킬 수 있지만 그 억제 기전은 결국 α_1 -AR 경유한 신호전달계 또는 평활근 세포내 이온 조절에 의할 것이다. α_2 -AR 효현제는 혈관 평활근 및 혈관 내피세포에 작용하여 혈관 이완 및 수축을 유발하는데 수축은 주로 세포의 Ca^{2+} 유입에 의하며 [10], clonidine는 내피 제거 대동맥에서 수축과 이완 효과가 있음을 보였다 [16]. 평활근 이완 기전 중 가장 중요한 하나는 혈관내피세포 및 혈관 평활근에서의 cGMP 활성화이다. 즉, cGMP 활성화에 의한 세포내 Ca^{2+} 감소와 평활근 수축 구조의 Ca^{2+} 에 대한 감응도 감소로 나눌 수 있다 [7]. 이 중 세포내 Ca^{2+} 감소기전으로 Ca^{2+} -활성 K^+ 통로 활성화, 세포막 Ca^{2+} 통로 억제,

세포질 Ca^{2+} 펌프 활성, SR Ca^{2+} 펌프 활성, IP_3 수용체 억제 및 IP_3 생성 억제 등이다 [7]. 혈관 내피세포가 존재한 경우 수용체를 경유한 혈관 이완 인자인 NO (nitric oxide) 유리는 물론 평활근에서 NO는 cGMP를 증가시키기 때문에 많은 혈관이완 및 수축 기전 연구에서 혈관내피세포의 유무 및 NOS (nitric oxide synthase) 억제 및 활성 상태는 매우 중요하다. 이 연구에서 α_2 -AR 효현제의 혈관수축 억제효과 및 이완효과가 1차적으로 혈관내피세포와 관련이 있는지를 밝히기 위하여 내피 제거 및 NOS 억제제 존재하에서 실험하였다. α_2 -AR 효현제에 의한 혈관 수축 억제 효과가 saponin으로 혈관내피세포 제거에 의해서 회복되지 않았을 뿐 아니라 α_2 -AR 효현제에 의한 혈관 이완효과도 억제되지 않았다. 따라서 α_2 -AR 효현제에 의한 혈관 이완효과는 혈관 내피 유래 인자 유리에 의한 결과가 아님을 알 수 있다. 또한 α_2 -AR 효현제에 의한 혈관 이완효과가 내피를 제거하거나 NOS 억제제들을 전처리 할 경우에도 억제되지 않았다. 이와 같은 결과에 의하면 α_2 -AR 효현제의 혈관수축 억제 효과나 혈관 이완효과는 내피세포에서 NOS에 의해 활성화된 NO 경로와 관계없이 일어남을 알 수 있다. 그러나 이전 연구자들에 의하면 흰쥐 대동맥에서 clonidine에 의한 혈관 이완이 NOS 억제제인 N-NNA에 의해 억제 [25], α_2 -AR 효현제에 의한 내피세포 의존적 EDRF 유리에 의한 혈관이완 [18, 28, 32], 혈관내피세포에서 α_1 -, α_2 -AR 자극에 의한 NO 유리와 NE에 의한 수축 억제 가능성 [18], 돼지 관상동맥에서 α_{2A} -AR 자극에 의한 내피의존적 이완효과 [5] 및 흰쥐 대동맥에서 clonidine에 의한 IP_1 (inositol monophosphate) 축적시키고 NE에 의한 IP_1 축적을 억제함을 [16] 보여 이 연구 결과와 상반되었다. 이러한 차이는 실험 방법 또는 실험동물의 종에 따른 차이를 들 수 있으나 본 연구에서는 보다 민감도 있는 기기를 사용했다는 점과 다른 연구에서는 2~4개의 혈관 고리를 사용한 반면 이 연구에서는 단 1개의 혈관 고리를 사용하였고 혈관 이완 효과는 물론 수축 실험 및 혈압 실험을 병행한 결과인 점에서 다르다.

NE에 의한 혈관수축은 α_1 -AR 자극으로 세포막의 PLC가 활성화되어 PIP_2 가 가수분해됨으로써 두 종류의 2nd messenger인 IP_3 와 DAG가 형성되어 [4], IP_3 에 의한 세포내 Ca^{2+} 유리 및 DAG에 의한 PKC를 활성으로 혈관은 수축한다. 따라서 α_2 -AR 효현제에 의한 혈관이완은 직접적으로 PLC 억제 또는 IP_3 와 DAG 생성 억제에 의한 결과일 수 있다. 그러나 이 결과에서 PLC 억제제인 NCDC는 물론 PKC 억제제인 staurosporine 및 inositol monophosphatase 억제제인 lithium에 의하여 α_2 -AR 효

현제에 의한 혈관 이완효과가 억제되지 않았다. 따라서 α_2 -AR 효현제의 α_1 -AR에 친화력이 [5] 있음을 고려할 때 α_2 -AR 효현제가 직접적으로 α_1 -AR를 점유하여 작용할 가능성은 있으나 α_1 -AR 수용체 자극 신호전달 경로를 억제하여 혈관을 이완시킬 가능성은 없는 것으로 사료된다.

추가적으로 α_2 -AR 효현제는 말초적으로 혈관을 이완시킬 수 있고 전신적으로 투여할 경우에도 혈압은 일시적 증가 후 지속적인 혈압하강 효과가 관찰되었다. 따라서 혈관이완과 혈압하강은 밀접한 관련이 있을 수 있다. 혈관에서 수축에 대한 결과와 이완에 대한 결과가 일치하듯 혈압하강 효과는 TBA에 의하여 억제되었으나 다른 약물에 의해서는 억제되지 않아 in vitro 혈관 실험과 유사하였다. 그러나 일시적인 혈압 상승효과는 TBA에 의하여 억제되지 않아 이는 중추적 작용 결과로 사료된다. TBA는 Ca^{2+} -활성 K^+ 통로를 억제함으로 말초 혈관을 수축시켜 혈압을 상승시킬 수 있다. 이 연구에서 TBA 자체에 의하여 혈압이 증가하였으며 증가 상태가 안정된 후 α_2 -AR 효현제 투여로 혈압하강 효과가 미미하거나 오히려 증가되는 경향을 보였다. 따라서 α_2 -AR 효현제에 의한 혈압 하강효과는 말초적 작용에 의한 혈관이완에 의한 결과일 수 있으며 이 이완효과는 세포내 Ca^{2+} 유리 또는 Ca^{2+} -활성 K^+ 통로 조절과 관련될 수 있을 것으로 사료되며 α_2 -AR 효현제 사용시 혈압 상승은 물론 혈압 하강효과가 있음으로 이는 임상적 전신적 적용시 부작용으로 고려해야 할 것이다. α_2 -AR 효현제인 clonidine는 중추적으로 교감신경 활성을 억제하는 기전으로 혈압을 하강시키기 때문에 고혈압치료제로 사용되었다 [31]. 그러나 말초적 작용에 의한 혈압하강 기전은 밝혀지지 않았다. 수의 임상에서 다양한 동물에 진정·진통·근이완 목적으로 광범위하게 쓰여지고 있는 xylazine은 아주 중요한 약물로 평가받고 있다 [23]. 특히 수용체 작용 약물을 마취 목적으로 사용한다는 점에서 인간 마취학에서 탐구할 만한 가치가 있다고 하였다 [1]. 그러나 이 연구에서와 같은 근본적인 기초 자료 없이 임상적 사용은 결국 많은 부작용을 초래할 수 있음에 유념해야 할 것이다.

결론

전신 마취 흰쥐 및 적출 대동맥에서 α_2 -AR 효현제인 clonidine 및 xylazine의 혈압, 혈관수축 및 이완효과는 다음과 같았다. 혈관 내피세포가 존재하는 혈관에서 α_2 -AR 효현제는 농도 의존적으로 NE에 의한 수축력을 억제하였으나 고농도 KCl에 의한 수축력은 억제시키지

않았다. 이 억제효과가 ryanodine 또는 TBA에 의하여 유의성 있게 회복되었으나 glibenclamide 또는 nifedipine 존재하, 세포의 Ca^{2+} 제거 및 혈관내피를 제거 (saponin에 의한 제거) 혈관에서는 α_2 -AR 효현제 의한 NE 및 PE 수축력 억제가 회복되지 않았다. NE에 의한 수축력이 nifedipine 또는 verapamil에 의하여 부분적으로 억제되었으며 이 α_2 -AR 효현제에 의하여 억제되지 않은 수축력이 α_2 -AR 효현제에 의하여 유의성 있게 억제되었다. Clonidine 및 xylzine은 유사하게 농도 의존적 혈관이완을 일으켰고 이 이완효과가 α_2 -AR 길항제인 yohimbine에 의하여 억제되었으나 부분적이었다. 그러나 고농도 KCl에 의한 수축 혈관을 이완시키지 못했다. α_2 -AR 효현제에 의한 혈관 이완효과가 ryanodine 또는 TBA 전처리에 의하여 현저히 억제되었으나 glibenclamide, L-NNA, L-NAME, aminoguanidine, nifedipine, Ca^{2+} 제거 용액, saponin, NCDC, lithium 또는 staurosporine 전처리에 의해서는 억제되지 않았다. Xylazine에 의한 일시적인 혈압 하강효과는 TBA에 의하여 억제되었으나 glibenclamide, L-NNA, L-NAME, aminoguanidine, nifedipine, methylene blue, lithium 및 saponin 전처리에 의해서는 억제되지 않았다. 결론적으로 α_2 -AR 효현제의 혈관 이완효과는 혈관 내피세포 비의존적이며 세포내 Ca^{2+} 유리 억제 및 Ca^{2+} -활성 K^+ 통로 조절과 관련될 수 있고 이 혈관 이완효과에 의하여 혈압 하강효과가 나타날 수 있다.

참고문헌

1. Aantaa, R. Alpha₂-adrenoceptor antagonists. *Bailliere's Clin. Anaesthesiol.* 2000, **14**, 285-292.
2. Atalik K. E., Sahin A. S. and Dogan N. Interactions between phenylephrine, clonidine and xylazine in rat and rabbit aortas. *Methods. Find. Exp. Clin. Pharmacol.* 2000, **22**, 145-147.
3. Atalik, E. K., Sahin, A. S., Kilic, M. and Dogan, N. Role of the endothelium on the response to adrenoceptor agonists of rabbit aorta during cooling. *Fundam. Clin. Pharmacol.* 2000, **14**, 25-30.
4. Berridge, M. J. Rapid accumulation of inositol trisphosphate reveals that agonists hydrolyse polyphosphoinositides instead of phosphatidylinositol. *Biochem. J.* 1983, **212**, 849-858.
5. Bockman, C. S., Jeffries, W. B. and Abel, P. W. Binding and functional characterization of alpha-2 adrenergic receptor subtypes on pig vascular endothelium. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1993, **267**, 1126-1133.
6. Brayden, J. E. Potassium channels in vascular smooth muscle. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* 1996, **23**, 1069-1076.
7. Carvajal, J. A., Germain, A. M., Huidobro-Toro, J. P. and Weiner, C. P. Molecular mechanism of cGMP-mediated smooth muscle relaxation. *J. Cell. Physiol.* 2000, **184**, 409-420.
8. Chen, D. G., Dai, X. Z., Zimmerman, B. G. and Bache, R. J. Postsynaptic alpha 1- and alpha 2-adrenergic mechanisms in coronary vasoconstriction. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 1988, **11**, 61-67.
9. Dabire, H., Chamiot-Clerc, P., Chaouche-Teyara, K., Fournier, B. and Safar, M. E. Acute and chronic sympathoinhibition on carotid artery diameter of spontaneously hypertensive rats: effects of clonidine and fleroxan. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* 2000, **27**, 715-723.
10. Daly, C. J., McGrath, J. C. and Wilson, V. G. Pharmacological analysis of postjunctional alpha-adrenoceptors mediating contractions to (-)-noradrenaline in the rabbit isolated lateral saphenous vein can be explained by interacting responses to simultaneous activation of alpha 1- and alpha 2-adrenoceptors. *Br. J. Pharmacol.* 1988, **95**, 485-500.
11. Dunn, W. R., Daly, C. J., McGrath, J. C. and Wilson, V. G. The effects of nifedipine on alpha 2-adrenoceptor-mediated contractions in several isolated blood vessels from the rabbit. *Br. J. Pharmacol.* 1991, **103**, 1493-1499.
12. Faber, J. E. In situ analysis of alpha-adrenoceptors on arteriolar and venular smooth muscle in rat skeletal muscle microcirculation. *Circ. Res.* 1988, **62**, 37-50.
13. Green, S. A. and Thurmon, J. C. Xylazine-a review of its pharmacology and its use in veterinary medicine. *J. Vet. Pharmacol. Ther.* 1988, **11**, 295-313.
14. Huang, Y., Bourreau, J. P., Chan, H. Y., Lau, C. W., Wong, J. W. and Yao, X. Inhibitory effect of tetrabutylammonium ions on endothelium/nitric oxide-mediated vasorelaxation. *Life. Sci.* 2001, **69**, 1661-1672.
15. Hudgins, P. M. and Weiss, G. B. Differential effects of calcium removal upon vascular smooth muscle contraction induced by norepinephrine, histamine and potassium. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1968, **159**, 91-97.
16. Iwanaga, S., Shibata, O., Tsuda, A., Hashimoto, S., Makita, T., Cho, S. and Sumikawa, K. The role of

- alpha-adrenoceptors in the clonidine-induced contraction and relaxation of rat aorta. *Res. Commun. Mol. Pathol. Pharmacol.* 1998, **102**, 137-147.
17. **Jinsi, A. and Deth, R. C.** Alpha 2-adrenoceptor-mediated vasoconstriction requires a tyrosine kinase. *Eur. J. Pharmacol.* 1995, **277**, 29-34.
 18. **Kaneko, K. and Sunano, S.** Involvement of alpha-adrenoceptors in the endothelium-dependent depression of noradrenaline-induced contraction in rat aorta. *Eur. J. Pharmacol.* 1993, **240**, 195-200.
 19. **Karaki, H., Ozaki, H., Hori, M., Mitsui-Saito, M., Amano, K., Harada, K., Miyamoto, S., Nakazawa, H., Won, K. J. and Sato, K.** Calcium movements, distribution, and functions in smooth muscle. *Pharmacol. Rev.* 1997, **49**, 157-230.
 20. **Klide, A. M., Calderwood, H. W. and Soma, L.R.** Cardiopulmonary effects of xylazine in dogs. *Am. J. Vet. Res.* 1975, **36**, 931-935.
 21. **Langer, S. Z., Cavero, I. and Massingham, R.** Recent developments in noradrenergic neurotransmission and its relevance to the mechanism of action of certain antihypertensive agents. *Hypertension.* 1980, **2**, 372-382.
 22. **Langer, S. Z., Duval, N. and Massingham, R.** Pharmacologic and therapeutic significance of alpha-adrenoceptor subtypes. *J. Cardiovasc. Pharmacol. Suppl.* 1985, **8(7)**, S1-8.
 23. **Moens, Y.** The veterinary experience. *Bailliere's Clin Anaesthesiol.* 2000, **14**, 293-304.
 24. **Nakajima, T., Hazama, H., Hamada, E., Wu, S. N., Igarashi, K., Yamashita, T., Seyama, Y., Omata, M. and Kurachi, Y.** Endothelin-1 and vasopressin activate Ca(2+)-permeable non-selective cation channels in aortic smooth muscle cells: mechanism of receptor-mediated Ca²⁺ influx. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 1996, **28**, 707-722.
 25. **Nomura, S., Sunagane, N., Lee, T. J., Uruno, T. and Kubota, K.** Inhibition of alpha1-adrenoceptor-mediated contractions in isolated tail arteries and aorta of the rat by alpha2-adrenoceptor agonists. *Res. Commun. Mol. Pathol. Pharmacol.* 1995, **90**, 307-320.
 26. **Robertson, D., Goldberg, M. R., Tung, C. S., Hollister, A. S. and Robertson, R. M.** Use of alpha 2 adrenoceptor agonists and antagonists in the functional assessment of the sympathetic nervous system. *J. Clin. Invest.* 1986, **78**, 576-581.
 27. **Somlyo, A. P. and Himpens, B.** Cell calcium and its regulation in smooth muscle. *FASEB. J.* 1989, **3**, 2266-2276.
 28. **Sunano, S., Li-Bo, Z., Matsuda, K., Sekiguchi, F., Watanabe, H. and Shimamura, K.** Endothelium-dependent relaxation by alpha 2-adrenoceptor agonists in spontaneously hypertensive rat aorta. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 1996, **27**, 733-739.
 29. **Taggart, M. J., Menice, C. B., Morgan, K. G. and Wray, S.** Effect of metabolic inhibition on intracellular Ca²⁺, phosphorylation of myosin regulatory light chain and force in rat smooth muscle. *J. Physiol.* 1997, **499**, 485-496.
 30. **Timmermans, P. B. and van Zwieten, P. A.** Vasoconstriction mediated by postsynaptic alpha 2-adrenoceptor stimulation. *Naunyn. Schmiedebergs. Arch. Pharmacol.* 1980, **313**, 17-20.
 31. **Velasco, M. and Luchsinger, A.** Central Acting Antihypertensive Drugs: Past, Present, and Future. *Am. J. Ther.* 1995, **2**, 255-257.
 32. **Vo, P. A., Reid, J. J. and Rand, M. J.** Attenuation of vasoconstriction by endogenous nitric oxide in rat caudal artery. *Br. J. Pharmacol.* 1992, **107**, 1121-1128.
 33. **Wagner, A. E., Muir, W. W. and Hinchcliff, K. W.** Cardiovascular effects of xylazine and detomidine in horses. *Am. J. Vet. Res.* 1991, **52**, 651-657.