

탈분극과 근장그물 내 Ca^{2+} 고갈-유도 평활근의 수축 및 세포 내 Ca^{2+} 변동에 관여하는 L-형 Ca^{2+} 통로의 상관성

김중환

용인대학교 물리치료학과

The Relationship of the L-type Ca^{2+} Channel on the Depolarization- and Depletion of SR Ca^{2+} -induced Smooth Muscle Contraction and Intracellular Ca^{2+} Mobilization

Jung-Hwan Kim, PT, PhD

Department of Physical Therapy, Yongin University

Purpose: It is generally accepted that smooth muscle contraction is triggered by intracellular Ca^{2+} ($[Ca^{2+}]_i$) released from intracellular Ca^{2+} stores such as sarcoplasmic reticulum (SR) and from the extracellular space. The increased $[Ca^{2+}]_i$ can phosphorylate the 20,000 dalton myosin light chain (MLC₂₀) by activating MLC kinase (MLCK), and this initiates smooth muscle contraction. In addition to the $[Ca^{2+}]_i$ -MLCK-tension pathway, a number of intracellular signal molecules, including mitogen-activated protein kinase (MAPK), protein kinase C (PKC) and others, play important roles in the regulation of smooth muscle contraction. However, the mechanisms regulating contraction of depletion of SR Ca^{2+} in mouse gastric smooth muscle strips is not still clear. **Methods:** To investigate the roles of Ca^{2+} influx and SR Ca^{2+} release channel on gastric motility, isometric contraction and $[Ca^{2+}]_i$ were examined in mouse gastric smooth muscle strips. **Results:** High KCl, ryanodine, an activator of Ca^{2+} -induced Ca^{2+} release channel, and cyclopiazonic acid (CPA), an inhibitor of SR Ca^{2+} -ATPase evoked a sustained increase in muscle contraction and $[Ca^{2+}]_i$. These increases induced by high KCl, ryanodine, and CPA were partially blocked by application of verapamil (10 μ M), a L-type Ca^{2+} channel inhibitor. Additionally, in Ca^{2+} -free solution (1 mM EGTA), ryanodine and CPA had no effect on contraction and $[Ca^{2+}]_i$ in fundic muscle strips. **Conclusion:** These results suggest that extracellular Ca^{2+} influx and depletion of SR trigger Ca^{2+} influx through verapamil-sensitive Ca^{2+} channel, and extracellular and SR Ca^{2+} store may functionally involve in the subcellular Ca^{2+} mobilization in mouse gastric muscle. (*J Kor Soc Phys Ther* 2007;19(5):65-76)

Key Words: Smooth Muscle Contraction, Intracellular Ca^{2+} , Ca^{2+} Influx and Release

1. 서론

논문접수일: 2007년 8월 2일
수정접수일: 2007년 9월 3일
게재승인일: 2007년 9월 24일
교신저자: 김중환 junghwankim3@hanmail.net

여러 원인으로 유도되는 연관통(referred pain)과 위경련(gastrodynia), 위궤양(gastric ulcer), 소화불량(dyspepsia) 및 위암(gastric cancer) 등과 같은 병리병변은 소화성의 증가나 결여 및 반복적 위운동성의 저하와 과도 수축성에 의한 결과로 초

래됨이 알려져 있다(Koo 등, 1986; Piasecki와 Thrasivoulou, 1993; Bjornsson과 Abrahamsson, 1999). 실제 우리나라의 경우 사망원인별 1순위를 차지하는 것이 암이며 암 발생 중 1위를 차지하는 것이 위암(남성: 23.68%, 여성: 16.37%)으로써 소화기 질환의 중요성 및 위험성이 강조되고 있다(보건복지부, 2005; 통계청, 2007). 더욱이 서구화된 식생활 및 스트레스 환경에 폭로된 결과로 나타나는 소화기질환 환자의 증가와 장기간의 약물복용 및 의료비부담 등의 부정적 결과는 간과할 수 없는 사회문제로 인식되고 있다(한경희와 박동연, 1998; 최용순, 2001).

이러한 위 조직은 위장관 중에서 음식물을 저장, 소화하며 소화된 음식물을 소장으로 보내는 등의 기능을 담당하는 장기이다. 또한 위는 위저(fundus)와 위체(corpus) 및 유문부(antrum)로 나눌 수 있으며, 각 부위에서 나타나는 근-수축력 및 안정막전압(resting membrane potential; RMP) 등에 차이가 있음을 알 수 있다(Boev 등, 1985; Petkov와 Boev, 1996). 또한 위 조직은 근장그물(sarcoplasmic reticulum, SR)의 발달이 양호하며, 이러한 SR은 위 수축을 위한 Ca^{2+} 공급처의 역할을 담당한다(Boev 등, 1985; Petkov와 Boev, 1996, 1998). 따라서 탈분극-유도 세포내 Ca^{2+} 유입과 함께 평활근의 세포내 Ca^{2+} 농도의 상승을 유발시키게 된다(Figure 1)(Kim 등, 1992; Ozaki 등, 1993). 그러나 평활근 조직에 존재하는 SR의 기능과 이와 연관된 수축기전에서 유사분열-활성단백질 부활효소(mitogen-activated protein kinase; MAPK)와 단백질 부활효소 C(protein kinase C; PKC) 및 Rho 부활효소(Rho kinase; ROCK) 등의 활성증감이 제시되고 있으나, 그 조절에 대한 명확한 기전은 알려져 있지 않다(Figure 1)(Bae 등, 2007; Kim 등, 2004, 2005, 2006). 무엇보다도 소화기전문물리치료의 영역에서의 체계적이고 심도 있는 연구를 위한 소화 장기의 작용기전 및 그 연관성의 연구는 필수조건임은 부인할 수 없다. 이러한 중요성에도 불구하고 소화기질환에 대한 물리치료영역의 연구결과는 미비한 것이 사실이다. 일부 연구자들에 의해 은침점전기자극(silver

spike point electrical stimulation)과 같은 한방이론을 바탕으로 인체의 경혈을 자극하여 내분비계 및 면역체계 등을 조절할 수 있는 전기치료 기기의 개발 및 적용되고 있으나(천기영 등, 2004; 최영덕과 김중환, 2005), 그 효과에 대한 연구결과는 미비한 것이 사실이다. 따라서 본 연구에서는 위 평활근조직을 비롯한 여러 평활근 조직의 탈분극-유도 수축반응의 유무와 수축의 유형 및 그 특이성을 관찰하고, 특히 위조직 평활근 조직에 관여하는 세포의 Ca^{2+} 의 유입과 SR에서의 Ca^{2+} 유리를 확인할 수 있는 효능제의 사용 및 근장력의 변화와 세포내 Ca^{2+} 을 측정하고 그 연관성을 살펴봄으로써 소화기전문물리치료 연구를 위한 기초의학적 자료로 도움이 되고자 하였다.

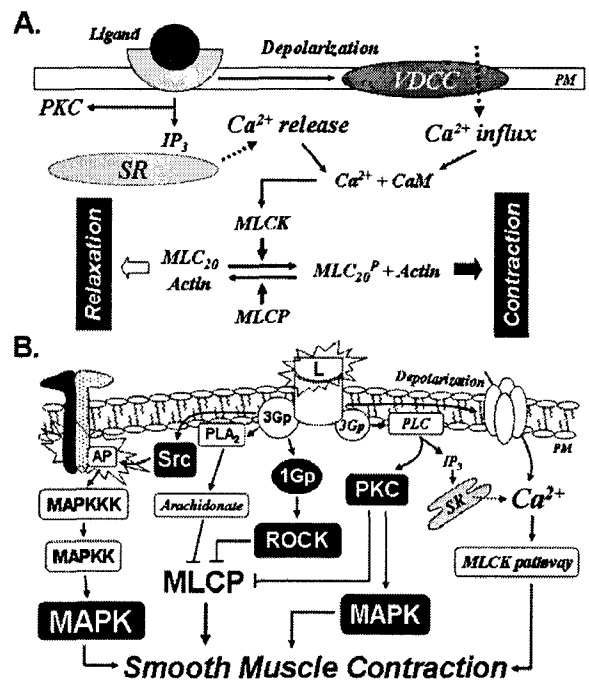


Figure 1. The schematic representation of smooth muscle contraction. VDCC, voltage-dependent Ca^{2+} channel; PKC, protein kinase C; IP3, inositol 1, 4, 5-triphosphate; CaM, calmodulin; L, ligand; 3Gp, trimeric GTP-binding protein; 1Gp, monomeric GTP-binding protein; AP, adaptor protein; PLA₂, phospholipase A₂; PLC, phospholipase C; ROCK, Rho kinase; MLCP, myosin light chain phosphatase; SR, sarcoplasmic reticulum; PM, plasma membrane; MLC₂₀, 20-kDa myosin light chain; MLCK, myosin

light chain kinase; MAPKKK, mitogen-activated protein kinase kinase kinase; MAPKK, mitogen-activated protein kinase kinase; MAPK, mitogen-activated protein kinase.

II. 연구방법

1. 실험동물

본 연구에 사용한 실험동물은 170~190g의 웅성 랫드 10수와 자성 랫드 10수, 30~35g의 웅성 ICR 마우스 25수, 180~200g의 웅성 기니픽 5수를 사용하였으며(대한바이오링크, 대한민국), 돼지의 폐동맥은 도축장으로부터 폐를 제공받아 4°C의 생리적 식염수(physiological salt solution, PSS)로 관류시킨 후 실험실로 옮겨 폐동맥을 신속히 적출하여 사용하였다. 각 주령의 실험동물은 입하 후, 사육장에 분리하여 12시간의 명암주기로 사육하였다. 입하 후 첫 1주일은 환경적응기간으로 하였다. 물과 사료(실험동물전용사료, 대한바이오링크)는 충분히 공급하였으며, 사육장의 온도는 자동온도조절시스템(허리케인0300, 천우이엔씨)을 이용하여 20±1°C를 유지하였다.

2. 위와 혈관, 자궁, 폐동맥, 장간막동맥, 신동맥 및 기관평활근의 장력 측정

본 연구를 위해, 랫드는 후두부를 강타하여 실신시킨 뒤 경동맥을 절개하여 혈액을 충분히 방혈 시킨 뒤 흉대동맥과 기관평활근, 신동맥, 장간막동맥 및 자궁조직을 적출하였다. 마우스의 경우 경추를 탈골시킨 후 복부를 절개하고 위 전체를 적출하였다(Kim 등, 1992). 적출한 조직은 PSS가 든 용기에 옮긴 후 편으로 고정하고 실온에서 결합조직과 지방을 제거하였다. 혈관 조직의 경우 폭 2~3mm 링을 만들어 사용하였으며, 위는 소만부로 절개하여 내용물을 완전히 제거하고 5번 이상 위-점막을 PSS로 세척하였다. 실체현미경(Zoom stereomicroscope, SZ-ST, Olympus, Japan)

하에서 위-점막을 제거하고 평활근 층만이 남도록 하였다. 위는 위저부, 위체부 및 유문부의 3부위로 나누고 위저부와 유문부를 사용하였다. 각각의 부위에 따라 근 절편은 윤상근 방향으로 폭 2 mm, 길이 10 mm가 되도록 절단하였으며, 기관의 경우 기관연골을 포함하여 폭 3 mm, 길이 10 mm가 되도록 연골을 절단하여 본 연구에 사용하였다. 한쪽은 근육 고정기에 다른 한쪽 끝은 장력 변환기(Force Displacement Transducer, FT 03, Grass, USA)에 연결하였다. 조직은 표본조(7ml)로 옮겨 생리현상기록기(Physiograph, 7WC, Grass, USA)로 기록하였다. 근 표본은 10mN의 정지장력을 걸고 약 20분간 안정시킨 후 고농도 KCl과 생리적 식염수의 처치를 3회 이상 반복하여 고농도 KCl에 대한 반응이 일정하게 나타난 것을 확인하고 실험을 시작하였다(Kim 등, 2005, 2006).

본 연구에 사용된 PSS의 조성은 NaCl 136.9mM, KCl 5.4mM, CaCl₂ 1.5 mM, MgCl₂ 1.0mM, NaHCO₃ 23.8mM, glucose 5.5mM, EDTA 0.01mM로 구성되었다. 또한 본 실험에서 사용한 10, 20, 30, 40, 50, 60 mM의 고농도 KCl용액은 NaCl를 동일한 mol의 KCl로 치환하여 작성하여 사용하였다. 본 실험에서 사용된 모든 실험용액은 95% O₂, 5% CO₂로 포화시켜 37°C에서 pH 7.4로 조정하여 실험에 사용하였다(Kim 등, 2003, 2004).

3. 위 조직의 세포 내 Ca²⁺ 농도 ([Ca²⁺]_i) 측정

세포내 Ca²⁺ 농도 ([Ca²⁺]_i)의 측정은 Kim 등(1992)과 같은 방법으로 Ca²⁺의 형광지시제인 fura-PE3를 이용하여 측정하였다(Kim 등, 1992). 수축 측정과 동일한 방법으로 작성된 근육절편을 fura-PE3의 아세톡시메틸에스테르(acetoxymethyl ester, fura-PE3/AM, 5 μM)로 처리하였다. Fura-PE3/AM의 세포막 투과성을 증가시키기 위하여 비-세포독성 계면활성제인 cremophor EL (0.02%)를 추가적용 하였다. 근육표본에 대한 fura-PE3의 부하가 끝난 후, 비-분해형 fura-PE3 (fura-PE3/AM)를 제거하기 위해 PSS로 순화시켰

다. 근육표본은 340 nm와 380 nm의 두 파장의 excitation을 48 Hz로 순차적으로 조사하였고, 이때 발생하는 500 nm의 형광 (F340과 F380)을 형광광도계 (CAF110, JASCO, Japan)로 분석하였다. $[Ca^{2+}]_i$ 의 변화는 F340과 F380의 비율 (R340/380)로서 표시하였다. 세포질에서 Ca^{2+} 에 대한 fura-PE3의 결합계수는 in vitro에서의 결과와 차이가 있으므로 $[Ca^{2+}]_i$ 의 절대치를 구하지 않고 정지 시와 각 효현제들의 자극 시에 얻어진 비율을 각각 $[Ca^{2+}]_i$ 의 0%와 100%로 취했다(Kim 등, 1992, 2004).

4. 사용 시약

근-수축 반응과 세포내 Ca^{2+} 농도를 측정하기 위하여 사용된 시약은 다음과 같다. Fura-PE3/AM (Taf labs, USA), cremophor EL (Nacalai tesque, Japan), nifedipine (Bayer, Germany), cyclopiazonic acid (CPA), ryanodine, 2-mercaptoethanol, verapamil, heparin, ethylene glycol-bis[β -Aminoethylether] N,N,N',N'-tetraacetic acid (EGTA), (이상 Sigma Chemical Co., USA)를 사용하였다.

III. 결 과

1. 세포막 탈분극-유도 평활근의 수축반응

조직의 종류에 따른 탈분극-유도 수축반응의 유무 및 차이를 살펴보기 위해 랫드의 흉대동맥과 장간막-신동맥, 자궁, 기니픽의 기관평활근, 돼지의 폐동맥 및 마우스의 위 조직에서 위저부와 유문부로 구분하여 고농도 KCl(40~70 mM)을 각각 적용하였다.

랫드의 흉대동맥과 장간막동맥, 자궁 및 신동맥 조직과 돼지의 폐동맥에 40 mM과 70 mM의 KCl을 투여하면 1분 내에 (흉대동맥; $45.8 \pm 5.3\%$, 장간막동맥; $74.5 \pm 3.3\%$, 자궁; $60.3 \pm 4.1\%$, 폐동맥; $66.8 \pm 4.7\%$, 신동맥; $74.5 \pm 6.5\%$) 급격한 위상성 수

축(phasic contraction)의 증가 후 시간-의존적 긴장성 수축(tonic contraction)증가를 나타내어 10분 경과 후후에 최대수축에 이르는 것을 확인할 수 있었다(Figure 2A, 2B, 2C, 2D, 2E, 2G). 기니픽의 기관평활근의 경우, 40 mM의 KCl을 적용하면 1분 내에 $39.5 \pm 1.7\%$ 의 급격한 위상성 수축을 나타내다가 3분이 경과함에 따라 완만한 긴장성 수축($49.8 \pm 3.9\%$) 증가와 뒤이어 급격한 긴장성 수축 형태의 특성(5분; $74.0 \pm 3.5\%$, 7분; $91.0 \pm 2.1\%$)을 관찰할 수 있었다(Figure 2E, 2F).

그러나 위 조직의 경우, 위저부와 유문부에 적용한 60 mM KCl로 유도되는 수축의 형태는 30초 이내에 급격한 최대 위상성 수축(위저부; $99.5 \pm 0.5\%$, 유문부; $99.3 \pm 0.8\%$)이 나타난 후 1분 이내에 감소하는 유형(위저부; $57.8 \pm 6.2\%$, 유문부; $35.8 \pm 2.3\%$)으로 나타난 후 시간이 경과됨에 따라 완만한 감소의 긴장성 수축을 유지하는 특성을 나타내었다(Figure 2H, 2I). 또한 유문부의 경우 2~3분 사이에 긴장성 수축이 증가 후 다시 감소하는 수축의 형태(2분; $44.5 \pm 3.1\%$, 3분 $35.0 \pm 2.6\%$)가 나타남을 관찰할 수 있었다(Figure 2H, 2J). 특히, 유문부와 위저부 조직에서 KCl에 대한 위상성 성분을 100%로 하면 지속성 성분은 감소하는 경향을 나타냈는데 그 감소정도는 위저부에 비하여 유문부에서 큰 것으로 관찰되었다(Figure 2H, 2I, 2J). 또한 KCl을 농도-의존적(10~70 mM)으로 적용한 결과 위저부의 경우 저농도로부터 고농도 적용의 KCl에서 긴장성 수축과 함께 위상성 수축이 발생됨을 관찰할 수 있었다(Figure 3A). 반면 유문부의 경우, 저농도의 KCl에서는 위상성 성분은 적은부분을 차지하나 긴장성 부분에서 특징적인 극파(spike)의 수축형태가 중복되는 양상을 나타냈으며, 고농도의 KCl에서는 이러한 극파가 나타나지 않으면서 위상성 수축에 연이어 긴장성 형태의 조직특이성을 확인할 수 있었다(Figure 3B).

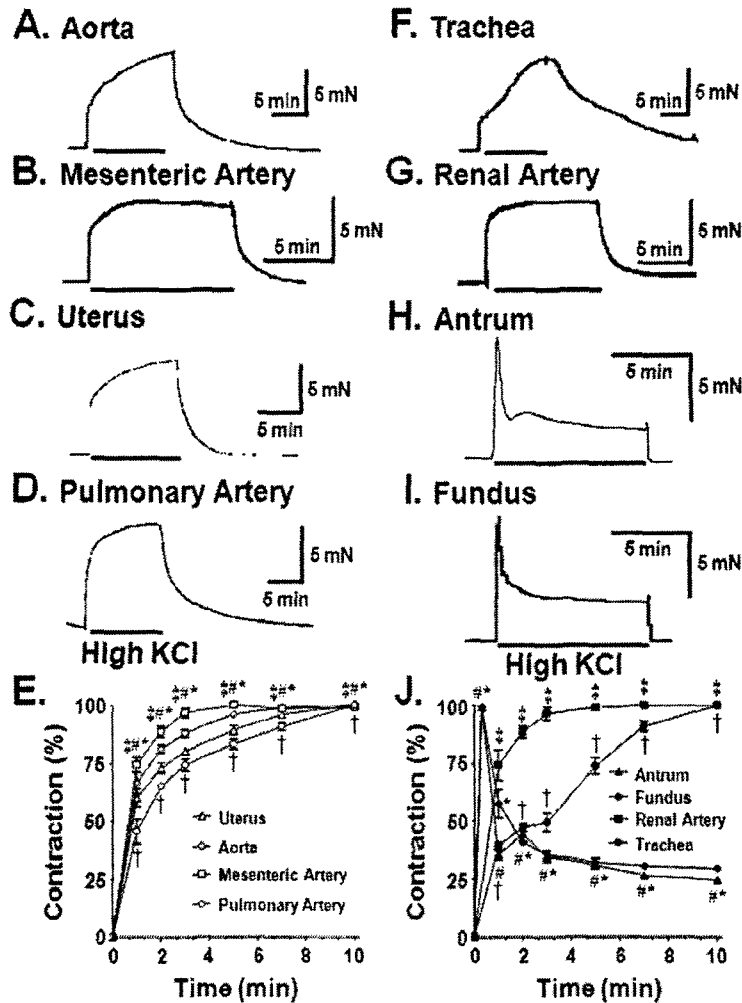


Figure 2. Representation tracing obtained by high KCl-induced muscle tension from rat thoracic aorta (A), rat mesenteric artery (B), rat uterus (C), porcine pulmonary artery (D), guineapig trachea (F), rat renal artery (G), antrum of stomach (H), fundus of stomach (I). Each point (E and J) represents mean \pm S.E.M. for 7~9 experiments. *,#,†,‡; $p < 0.05$ vs resting state.

2. 위조직의 세포막 탈분극-유도 평활근의 수축반응 및 세포내 Ca^{2+} 의 변동

위 조직을 적출하여 농도-의존적 KCl 적용에 따른 위 조직(위저부) $[Ca^{2+}]_i$ 의 변화를 관찰하였다. 결과 10~30 mM KCl을 처리하면 $[Ca^{2+}]_i$ 약간 증가하다가 30 mM에서 최대 반응에 이르는 것을 관찰할 수 있었다. 그러나 40 mM 이상의 고농도에서는 오히려 감소되는 경향이 나타남

을 확인할 수 있었다(Figure 3C).

또한 세포의 Ca^{2+} 유입의 통로의 특성을 확인하기 위해 위 조직에서 위저부 절편에 60 mM KCl을 투여하여 수축 및 세포내 Ca^{2+} 을 일정하게 유지시킨 후 L-형 Ca^{2+} 통로 억제제인 verapamil을 누적적(100 nM~10 μ M)으로 각각 적용하였다(Figure 3Da, 2Db). 결과 KCl-유도 평활근 수축 및 세포내 Ca^{2+} 농도를 농도-의존적으로 억제하였으며 10 μ M의 농도에서 완전히 억제시키는 것을 관찰할 수 있었다(Figure 3Da, 3Db).

김중환 : 탈분극과 근장그물 내 Ca^{2+} 고갈-유도 평활근의 수축 및 세포 내 Ca^{2+} 변동에 관여하는 L-형 Ca^{2+} 통로의 상관성

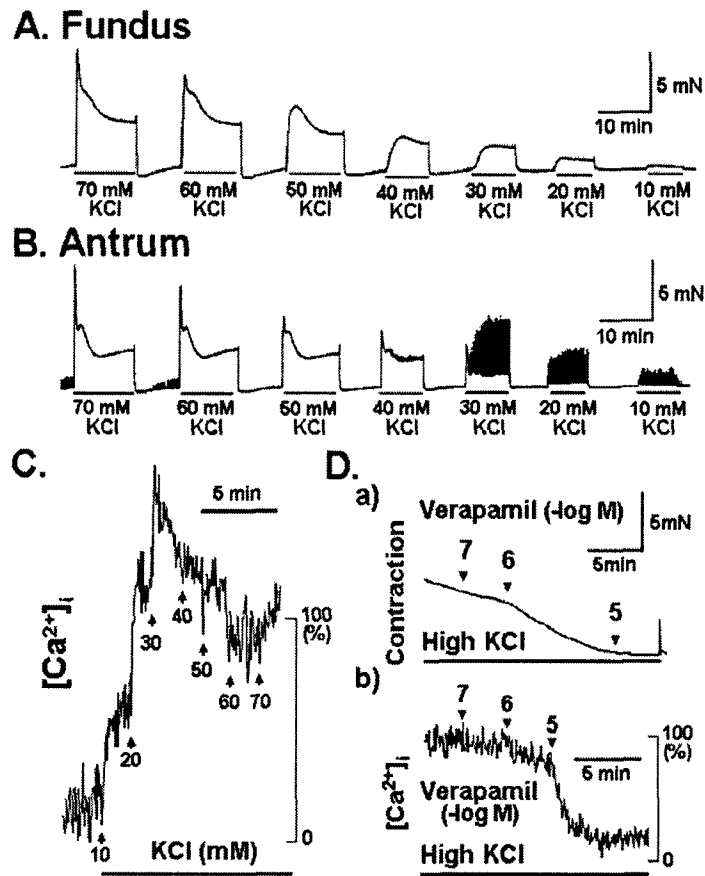


Figure 3. Effects of high KCl on contraction and intracellular Ca^{2+} level in gastric muscle strips from mouse stomach. $[Ca^{2+}]_i$, concentration of intracellular or cytosolic Ca^{2+} ; KCl, potassium chloride.

3. 위조직의 근장그물-연관성 평활근의 수축 반응 및 세포내 Ca^{2+} 의 변동

위 조직을 적출하여 세포내 Ca^{2+} 저장고인 근장그물이 $[Ca^{2+}]_i$ 농도의 조절과 수축발생에 미치는 영향에 대하여 관찰하였다. 따라서 Ca^{2+} -유도 Ca^{2+} 유리(Ca^{2+} -induced Ca^{2+} release; CICR)를 장기간 활성화하여 RyR(ryanodine receptor)을 통한 SR내 Ca^{2+} 유리를 완전히 억제하는 ryanodine(10 μ M)과 SR의 Ca^{2+} pump를 선택적으로 억제하는 cyclopiazonic acid(CPA, 10 μ M)를 처리하였다(Abe 등, 1996; Ng와 Gurney, 2001). 결과 PSS상태의 안정상태에 있는 위저부에서 긴장성 수축의 형태가 유도됨을 관찰할 수 있었다(Figure 4A, 4Ca, 4Da). 동일한 방법으로 Ca^{2+} 의 형광지시제를 부

과한 위저부 절편에 ryanodine과 CPA를 적용한 결과 $[Ca^{2+}]_i$ 의 증가를 확인할 수 있었다(Figure 4C, 4D). 특히 CPA에 의한 긴장성 수축반응은 초기에 급속한 수축의 증가가 일어난 후 시간이 경과함에 따라 수축이 감소하여 지속적으로 유지되는 형태의 수축반응을 관찰할 수 있었다(Figure 4A, 4Da). 또한 ryanodine과 CPA에 의한 수축의 발생과 $[Ca^{2+}]_i$ 농도의 증가가 유발되는 기전을 살펴보기 위해 verapamil의 효과를 확인하였다. 결과 위저부의 근 절편에 ryanodine과 CPA를 적용하여 수축을 유발시킨 후, verapamil 10 μ M을 적용한 결과 수축반응과 세포내 Ca^{2+} 농도의 부분적 억제가 나타남을 관찰할 수 있었다(Figure 4A, 4C, 4D).

한편, ryanodine과 CPA에 의한 수축과 세포내

Ca²⁺ 증가가 세포외부로부터 기인하는지 세포내에서 유래하는지 관찰하기 위하여 세포외의 Ca²⁺을 제거한 상태(1 mM EGTA PSS 전처리)에서

ryanodine과 CPA 10 μM을 각각 적용하였다. 결과 ryanodine과 CPA 적용으로 근-수축 반응이 나타나지 않음을 확인할 수 있었다(Figure 4B).

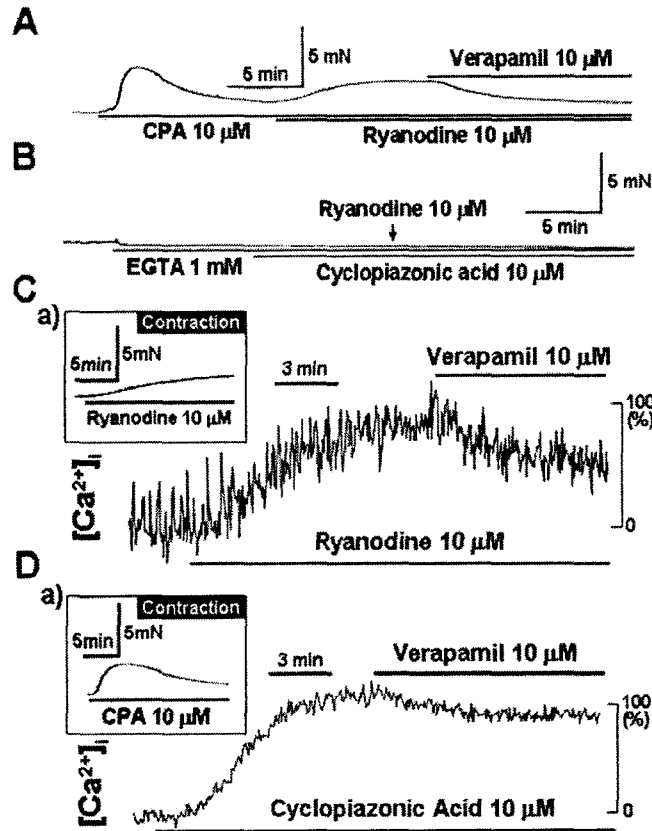


Figure 4. Effects of ryanodine and CPA on smooth muscle contraction and intracellular Ca²⁺ level in gastric muscle strips from mouse stomach. CPA, cyclopiazonic acid; EGTA, ethylene glycol-bis[β-Aminoethylether] N,N,N',N'-tetraacetic acid.

IV. 고찰

위장관 조직을 비롯한 혈관조직 등에 분포되어 있는 평활근은 소화-흡수를 비롯한 배설 및 신체의 대사 유지 등의 기능을 담당한다. 이러한 평활근은 횡문이 없는 민무늬근(길이: 약 50~200 μm, 직경: 약 2~10 μm)에 속하면서 장기의 벽에 윤주근(circular m.)과 종주근(longitudinal m.) 혹은 사근(oblique m.)의 형태로 주행하는 특성을 갖고 있다(Karaki 등, 1997). 평활근은 자율신경과 평활

근 자체에 의한 조절기전에 의해 수축/이완이 조절되며, 약물에 의한 근수축 반응 또한 존재하는 것으로 알려져 있다(Sanders, 1996; Karaki 등, 1997). 이러한 근수축 반응은 세포막에 존재하는 Ca²⁺ 통로와 Na⁺-Ca²⁺ 교환기구, Ca²⁺ 누출 및 SR로부터 Ca²⁺이 유리되는 등의 경로를 거쳐 완성되는 [Ca²⁺]_i의 증가로 유발하게 된다(Karaki와 Weiss, 1984; Karaki 등, 1997). 이러한 평활근 세포의 [Ca²⁺]_i 증가는 수축의 발생에 있어 중요한 의미를 갖는다. 세포내에서 증가된 Ca²⁺은 Ca²⁺

김중환 : 탈분극과 근장그물 내 Ca^{2+} 고갈-유도 평활근의 수축 및 세포 내 Ca^{2+} 변동에 관여하는 L-형 Ca^{2+} 통로의 상관성

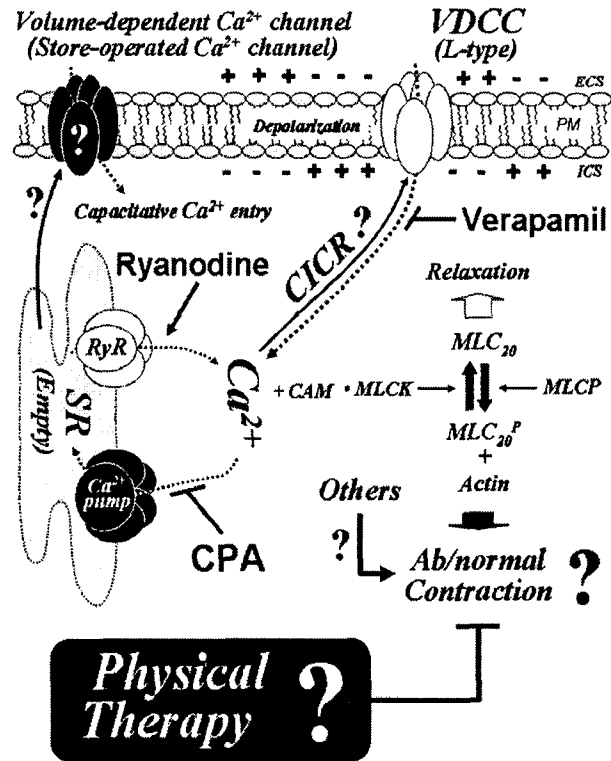


Figure 5. The schematic representation of smooth muscle contraction signalling. CPA, cyclopiazonic acid; VDCC, voltage-dependent Ca^{2+} channel; L-type, L-type Ca^{2+} Channel; CICR, Ca^{2+} -induced Ca^{2+} release; RyR, ryanodine receptor; Ca^{2+} pump, sarcoplasmic reticulum Ca^{2+} -ATPase; MLCP, myosin light chain phosphatase; SR, sarcoplasmic reticulum; CAM, calmodulin; PM, plasma membrane; MLC₂₀, 20-kDa myosin light chain; MLCK, myosin light chain kinase; ECS, extracellular space; ICS, intracellular space.

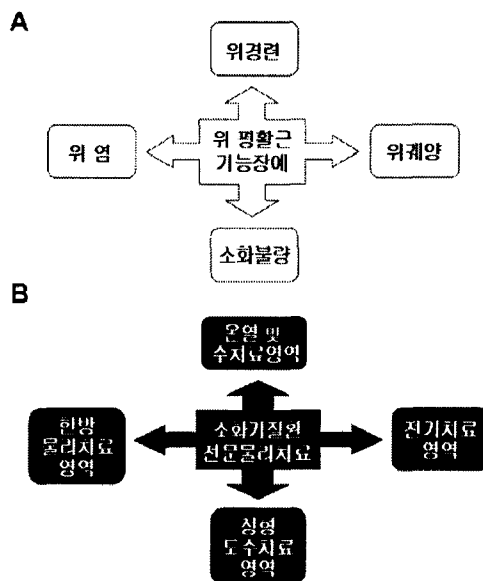


Figure 6. The schematic representation of abnormal muscle contraction-induced gastric muscle disease and physical therapy for digestive tract disease.

결합단백질인 칼모듈린(calmodulin; CaM)과 결합하게 되며, Ca^{2+} 과 결합된 CaM은 마이오신의 경쇄(myosin light chain; MLC)를 인산화시키는 효소인 마이오신경쇄부활효소(MLC kinase; MLCK)를 활성화시킨다. MLCK의 활성화는 MLC를 인산화시키고 마이오신의 구조적 변화를 가져오며 액틴과의 결합을 일으킨다(김중환 등, 2005a). 역으로 $[Ca^{2+}]_i$ 이 감소하면 MLCK의 활성화는 감소하는 반면 마이오신경쇄탈인산화효소(MLC phosphatase; MLCP)의 활성화가 증가하여 MLC의 탈-인산화를 유발시키게 된다(Somlyo 등, 1999). 이러한 평활근의 수축반응은 골격근에서 나타나는 디하이드로피리딘-민감성 Ca^{2+} 통로(dihydropyridine-sensitive Ca^{2+} channel; DHPR)와 라이아노딘-민감성 Ca^{2+} 통로(ryanodine-sensitive Ca^{2+} channel; RyR)의 복합체가 형성하는 "tetrad-foot"가 열림으로서 SR의 종말수조(terminal cisternae) 부위에 고농도로 존재하고 있는 Ca^{2+} 이 세포질로 유리되는 기전과는 차이가 있다(김중환 등, 2005b). 또한 골격근과 심근은 세포내 Ca^{2+} 농도의 증가기전에 차이는 존재하나 공통적인 것은 SR에 Ca^{2+} 을 저장하고 있어 세포외 정보의 전달에 중요한 역할을 한다는 것이다. 이와 같은 내용은 부분적으로 차이는 있으나 평활근에서도 공통된 사항이다(Karaki 등, 1997). 특히 평활근의 SR내에 존재하는 Ca^{2+} 은 카페인(cafeine) 적용으로 유리되며 이렇게 유리된 Ca^{2+} 이 SR에 존재하는 Ca^{2+} 통로를 소동시킴과 동시에 Ca^{2+} 에 대한 민감성을 증가시킴으로써 CICR을 활성화시키게 된다(Iino, 1999a, 1999b). 이와 함께 평활근에는 골격근에서 나타나지 않는 IP_3 -유도 Ca^{2+} 유리(IP_3 -induced Ca^{2+} release; IICR) 기전을 가지고 있다. 즉, IICR에서 IP_3 의 생성은 GTP-결합 단백질 연결 수용체를 자극하는 호르몬과 신경전달물질 등을 포함한 리간드가 수용체와 결합하면 GTP 결합단백질(G_q)을 활성화시켜 다음 효과기인 인지질분해효소 C(phospholipase C; PLC)를 활성화시킨다. 이렇게 활성화된 PLC는 이노시톨을 포함하는 인지질인 PIP_2 (phosphoinositol 4,5-bisphosphate)를 가수분해하여 IP_3 (inositol 1,4,5-trisphosphate)와 다이아실글리세롤

(diacylglycerol; DAG)을 생산하게 된다(Berridge와 Irvine, 1989; Berridge, 1993). 이렇게 생산된 IP_3 가 SR로부터 Ca^{2+} 을 유리시키며, 이러한 세포내 Ca^{2+} 농도의 증가를 IICR이라고 한다(Berridge와 Irvine, 1989; Berridge, 1993).

이러한 수축기전을 경유하여 유도되는 근긴장도와 안정막전압에는 위조직의 부위에 따라 차이가 있음을 알 수 있다(Boev 등, 1985; Petkov와 Boev, 1996). 이러한 내용을 근거로 조직의 종류와 부위별 차이에 따른 탈분극-유도 수축반응의 유무 및 그 차이를 살펴본 결과 유문부와 위저부에서는 위상성 성분 및 지속성 성분의 구성에 차이가 있는 것을 관찰할 수 있었으며, 이러한 반응의 차이는 세포외부의 자극에 의한 세포막의 흥분과 이를 통한 세포의 Ca^{2+} 이 세포 안으로 유입되는 활성화에 차이가 있음을 뒷받침해 준다(Morgan 등, 1981; Kim 등, 1992; Ozaki 등, 1990, 1993; Karaki 등, 1990, 1997). 또한 마우스의 위조직(위저부)을 적출하여 농도-의존적 KCl과 verapamil의 적용으로 유도되는 변화를 관찰한 결과 농도차이는 있었으나 KCl이 세포막의 탈분극을 일으켜 탈분극-의존적 Ca^{2+} 통로를 활성화시켜 세포 안으로 Ca^{2+} 유입이 일어남을 이해할 수 있었으며(Ozaki 등, 1990), verapamil의 적용으로 수축이 억제되는 것으로 미루어 KCl 적용으로 유도되는 수축반응에 L-형 Ca^{2+} 통로가 관여함을 이해할 수 있었다(Figure 5)(Marriott, 1988; Ozaki 등, 1990; Burches 등, 1992).

한편, 위 조직의 세포내 Ca^{2+} 저장고인 SR이 $[Ca^{2+}]_i$ 농도의 조절과 수축발생에 미치는 영향을 살펴보기 위하여 ryanodine과 CPA를 처리한 결과 긴장성 수축 및 $[Ca^{2+}]_i$ 의 증가가 유도됨을 관찰할 수 있었으며, 이러한 수축반응과 세포내 Ca^{2+} 의 증가는 각각 verapamil에 의하여 부분적 억제가 나타남을 확인할 수 있었다. 따라서 위조직에서 유발되는 근수축 및 세포내 Ca^{2+} 의 변동에는 CICR의 고갈과 SR Ca^{2+} pump의 선택적 억제로부터 유발되는 SR의 고갈-연관 세포외부로부터 Ca^{2+} 의 유입이 관여하며 이 유입 경로에 L-형 Ca^{2+} 통로가 관여함을 이해할 수 있었다(Abe 등,

김중환 : 탈분극과 근장그물 내 Ca^{2+} 고갈-유도 평활근의 수축 및 세포 내 Ca^{2+} 변동에 관여하는 L-형 Ca^{2+} 통로의 상관성

1996; Gurney 등, 2000; Ng와 Gurney, 2001). 따라서 본 연구의 결과는 평활근 세포막에 SR의 Ca^{2+} 농도-의존적으로 세포의 Ca^{2+} 유입이 결정되는 통로[즉, 용량의존성 Ca^{2+} 통로 (volume-dependent Ca^{2+} channel) 혹은 저장고-작동성 Ca^{2+} 통로(store-operated Ca^{2+} channel)]의 존재와 이를 통해 유도되는 용량성 Ca^{2+} 유입 (capacitative Ca^{2+} entry) 등의 보고를 뒷받침해 준다(Wayman 등, 1998; Doi 등, 2000; Ng와 Gurney, 2001). 또한 세포의 Ca^{2+} 을 제거한 상태에서는 아무런 반응이 유발되지 않은 결과로 미루어 ryanodine과 CPA에 의한 수축반응과 세포내 Ca^{2+} 의 증가는 세포의 Ca^{2+} -의존적임을 확인할 수 있었다(Figure 5)(Amobi와 Smith, 1998).

소화기 질환의 많은 부분이 비정상적 과도 평활근 수축 및 이완기전의 억제 등이 관여하는 것이 알려져 있다. 이러한 내용은 위평활근 조직의 수축특성을 이해하는 것이 중요함을 뒷받침해 준다. 특히, 위궤양, 위경련, 소화불량 등과 같은 질환은 흔히 유발되는 질환으로써 특히 신진대사와 면역체계가 약화되어 있는 노인에게는 큰 위해가 되는 것이 사실이다. 몇몇 연구결과에 의해 심혈관질환 및 소화불량과 위궤양과 같은 소화기질환의 병용 혹은 대체요법으로 은침점전기자극과 저주파 침요법(혹은 전침요법; electroacupuncture) 같은 치료법이 제시되어 있기는 하지만(천기영 등, 2004; Xu 등, 2006; Yi 등, 2006), 소화 장기의 기능 및 역할에 대한 체계적이면서 심도 있는 전문물리치료 연구는 미약한 것이 현실이다. 따라서 본 저자는 소화 장기-평활근 수축기전의 연구와 관련하여 물리치료 영역에서 체계적으로 연구해야 할 질환 및 적용 영역을 4개의 군으로 요약-제시해 보았다. 첫 번째가 위경련 질환이며, 두 번째가 급, 만성 위염, 세 번째가 위궤양, 마지막으로 소화불량이 그것이다. 이에 대한 소화기질환전문물리치료 연구의 영역으로 온열 및 수치료 영역과 전기치료 영역, 한방물리치료 영역 및 정형도수치료 영역 등에서 보다 체계적이고 활발한 연구가 이루어질 경우, 물리치료의 연구영역과 임상 모두에서 괄목할 성장이 이루어질 것으로

사료된다(Figure 6).

V. 결론

위 평활근 조직을 비롯한 여러 평활근 조직의 수축기전에 세포내 Ca^{2+} 농도의 변동이 중요한 역할을 하고 있음을 직접 관찰할 수 있었다. 탈분극-유도 흉대동맥과 장간막동맥, 신동맥, 폐동맥, 기관평활근 및 자궁 조직에서 유발되는 수축의 형태는 초기 급격한 수축 증가에 이어 완만한 긴장성 수축이 유지되는 특성을 나타낸 반면, 위 조직(위저부와 유문부)의 수축형태는 초기 급격한 위상성 수축유발 및 감소에 이어 긴장성 수축이 유지되는 특성을 관찰할 수 있었다.

특히, 위 평활근 조직에 적용한 탈분극-유도 KCl은 세포내 Ca^{2+} 농도의 증가와 수축반응을 유발하며, 이러한 반응기전에 L-형 Ca^{2+} 통로를 통한 세포의 Ca^{2+} 유입이 관여함을 이해할 수 있었다. 위 조직에서 나타나는 세포내 Ca^{2+} 농도의 증가와 수축유발기전에 근장그물의 Ca^{2+} 유리와 같은 Ca^{2+} 저장고의 역할이 중요함을 확인할 수 있었다. 또한 근장그물 내 Ca^{2+} 의 고갈로 활성화되는 Ca^{2+} -유도 Ca^{2+} 유리 기전에 L-형 Ca^{2+} 가 부분적으로 관여함을 확인할 수 있었다.

참고문헌

- 김중환, 민경옥, 천기영. 근골격 전문물리치료를 위한 평활근 수축기전의 연구. 대한물리치료사학회지, 2005a;12(1):77-86.
- 김중환, 민경옥, 최영덕 등. 골격근과 심근에서 수축반응에 관여하는 세포 내 Ca^{2+} 이동 및 그 연관 단백질에 대한 연구 -근골격전문물리치료 연구를 위한 기초물리치료학적 접근-. 대한물리치료사학회지, 2005b;12(2):57-70.
- 보건복지부. 암 발생 통계. (1999-2001), 2005.
- 천기영, 김임술, 최경규 등. 소금염-의존성 고혈압의

- 유해성과 고혈압-관련 교감신경전달물질의 변동에 대한 물리적 자극의 효과: 노인종합 복지회관 내 물리치료시설의 활용을 중심으로. *한국노년학*, 2004;24(3),1-11.
- 최영덕, 김중환. 프로스타글란딘 F2 α -유도 근 장력 증가에 대한 내피세포-의존성 혈관활성장관 펩티드(VIP)의 억제와 내인성 일산화질소(NO) 활성경로의 연관성 -은침점전기자극 유도 혈장 VIP 증가에 대한통증전문물리치료 연구를 중심으로, *대한물리치료사학회지*, 2005;12(2):25-34.
- 최용순. 노인환자들의 복약실태와 처방전상의 약물 상호작용검토. 중앙대학교의약식품대학원 석사학위논문. 2001.
- 한경희와 박동연. 충북지역 노인들의 약물복용 및 영양실태. 1996년도 한국학술진흥재단 지방대 육성과제 연구보고서. 1998;1-109.
- 통계청. 2005년 시도별 생명표 및 사망원인통계 결과. 2007.
- Abe F, Karaki H, Endoh M. Effects of cyclopiazonic acid and ryanodine on cytosolic calcium and contraction in vascular smooth muscle. *Br J Pharmacol*. 1996;118(7):1711-6.
- Amobi NI, Smith IC. Ryanodine- and cyclopiazonic acid-sensitive components in human vas deferens contractions to noradrenaline. *J Auton Pharmacol*. 1998;18(3):167-76.
- Bae YM, Sung DJ, Noh HJ et al. Serotonin-induced ion channel modulations in mesenteric artery myocytes from normotensive and DOCA-salt hypertensive rats. *J Smooth Muscle Res*. 2007; 43(3):85-97.
- Berridge MJ. Inositol trisphosphate and calcium signalling. *Nature*. 1993;361(6410):315-25.
- Berridge MJ, Irvine RF. Inositol phosphates and cell signalling. *Nature*. 1989;341(6239):197-205.
- Bjornsson ES, Abrahamsson H. Contractile patterns in patients with severe chronic dyspepsia. *Am J Gastroenterol*. 1999;94(1):54-64.
- Boev K, Bonev A, Papisova M. 4-Aminopyridine-induced changes in the electrical and contractile activities of the gastric smooth muscle. *Gen Physiol Biophys*. 1985;4(6):589-95.
- Burches E, Cortijo J, Oron JD et al. Effects of calcium antagonists on rat normal and skinned fundus. *J Pharm Pharmacol*. 1992;44(6):500-6.
- Doi S, Damron DS, Horibe M et al. Capacitative Ca²⁺ entry and tyrosine kinase activation in canine pulmonary arterial smooth muscle cells. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2000; 278(1):L118-30.
- Gurney AM, Drummond RM, Fay FS. Calcium signalling in sarcoplasmic reticulum, cytoplasm and mitochondria during activation of rabbit aorta myocytes. *Cell Calcium*. 2000;27(6):339-51.
- Iino M. Dynamic regulation of intracellular calcium signals through calcium release channels. *Mol Cell Biochem*. 1999a;190(1-2):185-90.
- Iino M. Molecular aspects of the excitation-contraction coupling in skeletal muscle. *Jpn J Physiol*. 1999b;49(4):325-33.
- Karaki H. The intracellular calcium-force relationship in vascular smooth muscle. Time- and stimulus- dependent dissociation. *Am J Hypertens*. 1990; 3(8Pt2):253S-6S.
- Karaki H, Ozaki H, Hori M et al. Calcium movements, distribution, and functions in smooth muscle. *Pharmacol Rev*. 1997;49(2): 157-230.
- Karaki H, Weiss GB. Calcium channels in smooth muscle. *Gastroenterology*. 1984;87(4):960-70.
- Kim B, Kim J, Bae YM et al. p38 mitogen-activated protein kinase contributes to the diminished aortic contraction by endothelin-1 in DOCA-salt hypertensive rats. *Hypertension*. 2004; 43(5):1086-91.
- Kim B, Kim YS, Ahn J et al. Conventional-type protein kinase C contributes to phorbol ester-induced inhibition of rat myometrial tension. *Br J Pharmacol*. 2003;139(2):408-14.
- Kim BK, Mitsui M, Karaki H. The long-term inhibitory effect of a Ca²⁺ channel blocker, nisoldipine, on cytosolic Ca²⁺ and contraction

김중환 : 탈분극과 근장그물 내 Ca^{2+} 고갈-유도 평활근의 수축 및 세포 내 Ca^{2+} 변동에 관여하는 L-형 Ca^{2+} 통로의 상관성

- in vascular smooth muscle. *Eur J Pharmacol.* 1992;223(2-3):157-62.
- Kim J, Lee CK, Park HJ et al. Epidermal growth factor induces vasoconstriction through the phosphatidylinositol 3-kinase-mediated mitogen-activated protein kinase pathway in hypertensive rats. *J Pharmacol Sci.* 2006;101(2):135-43.
- Kim J, Lee YR, Lee CH et al. Mitogen-activated protein kinase contributes to elevated basal tone in aortic smooth muscle from hypertensive rats. *Eur J Pharmacol.* 2005;514(2-3):209-15.
- Koo MW, Cho CH, Oqle CW. Effects of cold-restraint stress on gastric ulceration and motility in rats. *Pharmacol Biochem Behav.* 1986;25(4):775-9.
- Marriott JF. A comparison of the effects of the calcium entry blockers, verapamil, diltiazem and flunarizine against contractions of the rat isolated aorta and portal vein. *Br J Pharmacol.* 1988;95(1):145-54.
- Morgan KG, Muir TC, Szurszewski JH. The electrical basis for contraction and relaxation in canine fundal smooth muscle. *J Physiol.* 1981;311:475-88.
- Ng LC, Gurney AM. Store-operated channels mediate Ca^{2+} influx and contraction in rat pulmonary artery. *Circ Res.* 2001;89(10):923-9.
- Ozaki H, Gerthoffer WT, Hori M et al. Ca^{2+} regulation of the contractile apparatus in canine gastric smooth muscle. *J Physiol.* 1993;460:33-50.
- Ozaki H, Kwon SC, Tajimi M et al. Changes in cytosolic Ca^{2+} and contraction induced by various stimulants and relaxants in canine tracheal smooth muscle. *Pflugers Arch.* 1990;416(4):351-9.
- Petkov GV, Boev KK. Cyclopiazonic acid-induced changes in contractile activity of smooth muscle strips isolated from cat and guinea-pig stomach. *Eur J Pharmacol.* 1996;318(1):109-15.
- Piasecki CK, Thrasivoulou C. Spasm of gastric muscularis mucosae might play a key role in causing focal mucosal ischemia and ulceration. An experimental study in guinea pigs. *Dig Dis Sci.* 1993;38(7):1183-9.
- Sanders KM. A case for interstitial cells of Cajal as pacemakers and mediators of neurotransmission in the gastrointestinal tract. *Gastroenterology.* 1996;111(2):492-515.
- Somlyo AP, Wu X, Walker LA et al. Pharmacomechanical coupling: the role of calcium, G-proteins, kinases and phosphatases. *Rev Physiol Biochem Pharmacol.* 1999;134:201-34.
- Wayman CP, Gibson A, McFadzean I. Depletion of either ryanodine- or IP_3 -sensitive calcium stores activates capacitative calcium entry in mouse anococcygeus smooth muscle cells. *Pflugers Arch.* 1998;435(2):231-9.
- Xu S, Hou X, Zha H et al. Electroacupuncture accelerates solid gastric emptying and improves dyspeptic symptoms in patients with functional dyspepsia. *Dig Dis Sci.* 2006;51(12):2154-9.
- Yi SX, Yang RD, Yan J et al. Effect of electroacupuncture at foot-yangming meridian on somatostatin and expression of somatostatin receptor genes in rabbits with gastric ulcer. *World J Gastroenterol.* 2006;12(11):1761-5.