

혈관 긴장도 조절에 미치는 Na-K Pump에 관한 연구

서울대학교 의과대학 생리학교실

김 기 환 · 김 전

= Abstract =

The Role of Na-K Pump in the Modulation of Vascular Tone in the Rabbit

Ki Whan Kim and Jun Kim

Department of Physiology, College of Medicine, Seoul National University, Seoul, Korea

Force development of smooth muscle cells is directly regulated by the concentration of free calcium ions in the sarcoplasm, and the sarcoplasmic concentration of calcium ion can be modulated by electrogenic Na-K pump. The role of Na-K pump on vascular tone was studied in isolated rabbit renal artery.

Helical strips of arterial muscle were prepared from left renal arteries. All experiments were performed in HCO₃⁻-buffered Tyrode solution which was aerated with 3%CO₂-97% O₂ mixed gas and kept at 35°C. In some experiments, rabbit was injected intraperitoneally 18~24 hours prior to the experiments, with a large dose(5 mg/kg body wt) of reserpine, in order to eliminate the catecholamines present in intrinsic adrenergic nerve terminals. Treatment used in this experiment that inhibits Na-K pump was the exposure of strips to K-free Tyrode solution.

Contractile response to K-free Tyrode solution developed slowly and the time required for maximum contracture was 20~30 minutes. This K-free contracture was rapidly relaxed by the addition of potassium to the bathing solution.

No K-free contracture occurred in a Ca-free Tyrode solution. But contraction developed rapidly when calcium ion was added to the bathing solution after 30 minute exposure of the strip to Ca-free Tyrode solution. This contracture was completely inhibited by Ca-antagonist, verapamil.

The K-free contracture was abolished by α -adrenergic blocker, phentolamine, as well as by the catecholamine depletion from adrenergic nerve terminals.

Even in reserpinized strip, the exogenous norepinephrine-induced contraction in K-free Tyrode solution was rapidly suppressed by the addition of potassium ion.

The results of this experiment suggest that K-free contracture develops by norepinephrine release from adrenergic nerve terminals, while the relaxation of K-free contracture is induced by the activation of electrogenic Na-K pump.

서 론

혈관 평활근 수축에도 다른 근육에서와 같이 근장내

* 이 논문은 1981년도 문교부 학술연구조성비에 의하여 연구되었음.

유리 Ca⁺⁺(free calcium ions)이 필요하며, 활동전압 발생과 흥분-수축연결(excitation-contraction coupling, EC-coupling)과정에서도 중요한 역할을 하고 있다(Bohr, 1964; Somlyo and Somlyo, 1970; Rüegg, 1971). 혈관 평활근의 경우 근장내 유리 Ca⁺⁺의 공급 원으로는 세포막 외면에 느슨하게 붙어있는 것을 포함

한 세포의 Ca^{++} , 세포막 내면에 붙어있는 것과 세포 내 저장고(근장그물, 미토콘드리아 등)의 세포내 Ca^{++} 이 있어 혈관수축시에 중요 공급원으로서 작용한다(Prosser, 1974; Kuriyama et al., 1977).

Ca^{++} 공급원으로부터 근장내로 Ca^{++} 을 동원하여 수축을 유발시키는 과정에는, 활동전압이 일어나고 이로 인하여 수축이 일어나는 경우(electrical activation; EC-coupling)와 혈관 수축제(agonists; norepinephrine, angiotensin II, histamine 등)에 의하여 활동전압이 없이 수축이 일어나는(nonelectrical activation; pharmaco-mechanical coupling) 두가지 방법이 있다(Haesler, 1972; Mekata and Niu, 1972; Bohr, 1973; Fleckenstein, 1977). 평활근 세포막에는 두 종류의 Ca^{++} 통로가 있는 것으로 믿고있다. 즉 막전압의 변동에 따라 통로가 열리고 닫히는 것(potential-sensitive calcium channel)과 세포막에 존재하는 수용체의 작용으로 개폐가 조절되는 통로(receptor-operated calcium channel)가 있는데, Ca^{++} 길항제인 verapamil은 주로 막전압에 좌우되는 통로를 선택적으로 차단하는 것으로 알려져 있다(Kim and Kim, 1978; Bolton, 1979; Kim et al., 1979; Hong, 1980).

Na-K pump는 각종 세포막에 존재함이 알려져 있고(Stekheven and Bonting, 1981), 혈관 평활근 세포막에서도 딱 곳에서와 같은 작용을 하고 있으며, 막전압 형성(electrogenic pump)에도 기여하고 있음이 입증되어 있다(Anderson, 1976; Bonaccorsi et al., 1977; Blaustein, 1977; Lang and Blaustein, 1980; Lockette et al., 1980; Skaug and Detar, 1981). 혈관 평활근 세포막을 통한 Ca^{++} 이동에 세포내외의 Na^+ 농도변화와 세포의 K^+ 도 매우 다양하게 영향을 미치고 있다(Leonard, 1957; Hirke and Wilson, 1962; Sitrin and Bohr, 1971; Reuter et al., 1973; Blaustein, 1977; Bonaccorsi et al., 1977). 이와같이 세포내외의 Na^+ , K^+ 농도변화의 효과가 Na-K pump기전을 통하여 일어날 가능성은 쉽게 생각할 수 있으며, 특히 임상적으로 염분대사와 고혈압과의 인과관계가 크게 문제제되고 있으므로 혈관 긴장도가 Na^+ 에 의하여 조절될 수 있음은 고혈압 발생기전의 한가지 설명으로서 중요시되고 있다(Blaustein, 1977; Van Breemen et al., 1979).

본 실험은 혈관 평활근 세포막에 존재하는 Na-K pump가 혈관 긴장도(vascular tone)에 어떻게 영향을 미치는가를 관찰하기 위하여 저항혈관인 토끼 신동맥절편을 사용하여 Na-K pump를 억제 혹은 촉진

시키는 조건을 가하여 나타난 결과를 분석한 것이다.

실험 방법

체중 2.5~3.0 kg 되는 토끼를 암수 구별없이 실험 동물로 사용하였다. 토끼의 흥분으로 증가된 혈중 catecholamine 농도를 최소한도로 줄이기 위하여 후두부를 강타한 후 즉시 내경동맥을 절단하여 실험시켰다. 왼쪽 신동맥을 저출하여 실온에서 100% O_2 로 포화된 tris-완충 Tyrode 용액(NaCl 158, KCl 4.0, $CaCl_2$ 2.0, $MgCl_2$ 1.0, glucose 5.5, tris 10 mM, pH 7.35)이 들어있는 준비용기내에서 혈관 주위 조직을 깨끗이 박리하였다. 혈관 절제용 유리끝에 저출혈관의 한쪽 끝을 배어 고정시키고 돌리면서 45°방향으로 잘라 나선형의 긴 절편을 만들었다(helical strip). 이 절편을 길이 5~8 mm, 나비 0.8~1.5 mm 되도록 다듬어서 근육고정기에 양쪽 끝을 이완된 상태로 고정된 뒤 실온에서 충분히 산소를 주면서 1시간 가량 회복시켰다. 그런 뒤 35°C에서 3% CO_2 -97% O_2 의 혼합기체로 평형을 이룬 HCO_3^- 완충 Tyrode 용액(NaCl 148, KCl 4.0, $CaCl_2$ 2.0, $MgCl_2$ 1.0, $NaHCO_3$ 13, NaH_2PO_4 0.42, glucose 5.5 mM pH 7.35)으로 채워놓은 실험용기(용량 100 ml)에 옮겨 근육고정기와 근수축변환기(Grass FT-03)를 연결시키고 기록기(Device 제)에 연결하여 등장성 수축(isometric contraction) 곡선을 기록할 수 있도록 장치하였다.

실험용기 내에서 실험이 시작되기 전에 20분마다 새로운 용액으로 갈아주면서 1시간 정도 충분히 회복시킨 후 단계적으로 절편의 길이를 늘여서 피동장력(passive tension)이 0.3~0.5 g 되게 걸어주고 다시 20분마다 새로운 용액으로 갈아주면서 1시간 가량 회복시켜 최대장력을 발생할 수 있도록 하였다(Furchgott and Bhadrakom, 1953; Kim et al., 1979).

K-free Tyrode 용액은 정상용액에서 그대로 4 mM K만을 빼고 사용하였으나 K-경축용으로는 정상용액내의 Na^+ 을 K^+ 이 높아진만큼 줄여서 등장성 용액으로 만들어 사용하였다. 혈관 절편내 신경말단 속의 norepinephrine을 완전 고갈시킬 필요가 있을 때에는 실험시작 19~24시간 전에 체중 kg 당 5 mg의 reserpine을 복강내 주사하고 실험에 사용하였다(De Gubareff and Sleator, 1965). 절편의 무게는 실험이 끝난 뒤 수축에 참여한 부분만을 절단하여 수분을 포함한 것은 무게(wet weight)로 측정하였다.

실험에 사용된 약은 다음과 같다.

Norepineprine HCl	(Arterenol, Hoechst)
Phentolamine	(Regitin, CIBA)
Verapamil	(Isoptin, Knoll AG)
Reserpine	(APC, 아주약품)

실 험 성 적

1) K-free Tyrode 용액에 대한 수축반응(K-free contracture)

세포의 K⁺농도를 15 mM 이상으로 높이면 지속성 수축인 K-경축(K-contraturation)을 일으키는데 이것은 탈분극으로 Ca⁺⁺유입과 세포내 Ca⁺⁺유리가 증가되어 수축이 일어난다고 알려져 있다(Bohr, 1973; Kim et al., 1979). 100 mM K-Tyrode 용액에 실험동물절편을 노출시키자 즉시 수축이 일어나서 10분 이내에 일정한 크기의 K-경축곡선을 보이고 있는데 정상 Tyrode 용액으로 갈아주자 곧 정상수준으로 이완되고 있다(그림 1).

K-경축의 크기는 100 mM K-Tyrode 용액에서 최대치를 보이므로 앞으로의 모든 조건에서 발생된 장력의 크기는 이것과 비교하여 나타내었다. 실험동물절편이 K-경축으로부터 완전히 정상으로 돌아온 뒤 Na-K pump를 억제시킬 목적으로 K-free Tyrode 용액에 접촉시켰을 때의 반응을 그림 1에 보이고 있다.

K⁺이 없는 용액에 노출시키자 서서히 수축이 일어나서 최고치에 도달하는데에는 20~30분이 걸리고 있으며 장력발생도중이나 최고치에 도달한 뒤에도 발생된 장력이 일정한 크기로 지속되지 못하고 동요되고 있음을 보여주고 있다(K-free contracture). 여기에 K⁺을 투여하여 5 mM이 되도록하자 급격하게 경축현상이 풀리면서 정상수준으로 이완되었다. K-free contracture의 최대치는 K-경축의 70% 정도임을 알 수 있다.

2) 세포의 Ca⁺⁺과 K-free contracture

세포의 Ca⁺⁺이 K-free contracture에 미치는 영향

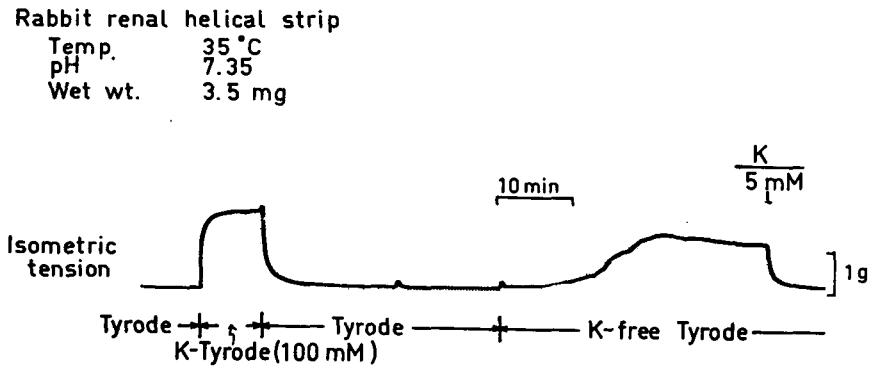


Fig. 1. Contractile response of rabbit renal artery to K-free Tyrode solution. K-free contracture is developed relatively slowly and its peak amplitude is about 70% as great as maximum K-contraction. Time required for maximum contraction in K-free contracture is about 20~30 minutes.

Rabbit renal helical strip

Temp.	35 °C
pH	7.35
Wet wt.	3.5 mg

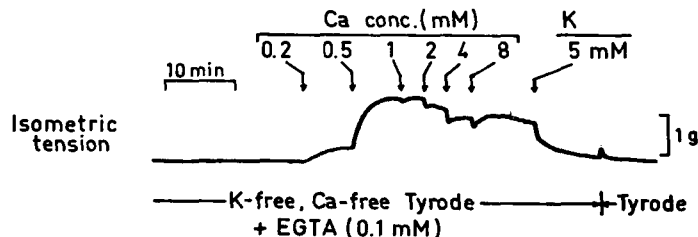


Fig. 2. Effect of external Ca on K-free contracture of rabbit renal artery. K-free contracture did not occur in the absence of Ca ion. A rapid contraction occurred when Ca was added to the bathing solution.

을 보기 위하여 Ca^{++} 을 완전제거한 용액에 접촉시켜 그 효과를 관찰하고 Ca^{++} 농도를 단계적으로 높인 결과를 그림 2에 보인다. K-free contracture는 Ca^{++} 이 없는 용액에서는 전혀 일어나지 않았으나 0.2 mM Ca^{++} 을 투여하자 즉시 수축반응이 일어났고, Ca^{++} 농도를 높임에 따라 수축의 크기도 증가하였으나 2 mM 이상부터는 오히려 장력발생이 감소되는 현상을 보여주고 있다 (그림 3). 2 mM 이상의 Ca^{++} 농도에서 수축의 크기가 감소되는 것은 Ca^{++} 의 stabilizing effect 때문인 것으로 생각된다(Bohr, 1963).

이와같이 K-free contracture의 발생 및 크기에 세포의 Ca^{++} 이 영향을 주고 있으므로 선택적으로 Ca^{++} 유입을 막는(Ca^{++} -channel blocker) verapamil(Kohlhardt et al., 1972)의 K-free contracture에 대한 효

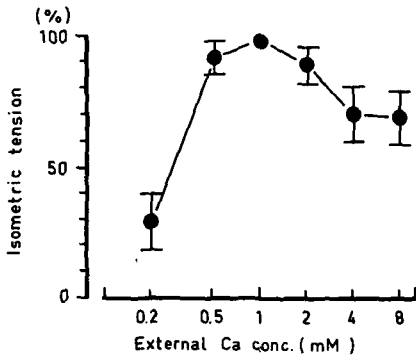


Fig. 3. Dose-dependent effect of external Ca on K-free contracture (mean \pm SEM, n=7). The contraction increased dose-dependently up to 1mM Ca ion, but above that the amplitude was decreased.

Rabbit renal helical strip
Temp. 35 °C
pH 7.35
Wet wt. 3.2 mg

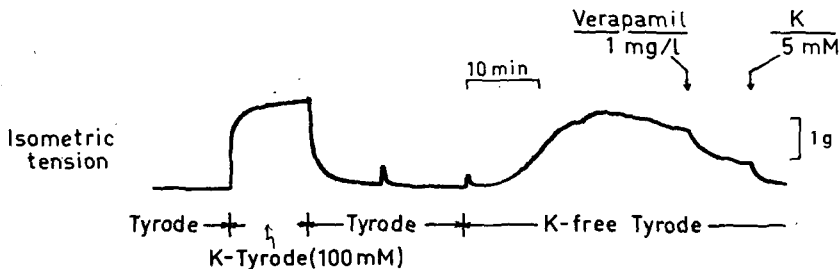


Fig. 4. The effect of Ca-antagonist, verapamil, on the K-free contracture. The contracture was completely inhibited by verapamil.

과를 본 것이 그림 4에 보인다. 30분간 K-free Tyrode 용액에 노출시켜 K-free contracture를 일으키고 여기에 1 mg/l verapamil을 투여한 결과 즉시 이완되는 것으로 보아 이 수축발생에는 증가된 Ca^{++} 유입과정이 개재된 것으로 해석된다.

3) K⁺투여에 의한 K-free contracture의 이완 반응

K-free contracture가 투여되는 K⁺농도변화에 그 반응양상이 어떻게 나타나는지를 보이는 것이 그림 5와 6이다. 그림 5에서 보면 K-free contracture가 최대값을 보이고 있을 때 0.1 mM 혹은 1 mM K⁺을 투여하자 즉시로 이완반응을 보였는데, 투여된 K⁺농도가 높을수록 이완속도가 빠름을 보여주고 있다(그림 5). K⁺농

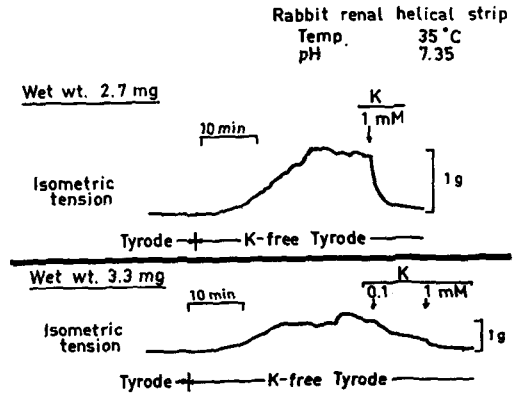


Fig. 5. Relaxing effect of potassium ion on K-free contracture. K-free contracture was suppressed rapidly by the addition of K ions to bath. This figure demonstrates that the rate and magnitude of relaxation are dependent on the potassium concentration.

도를 0.1 mM 로만 높여도 상당히 빠른 속도로 70%정도 이완되었고 1 mM 에서는 거의 정상 수준으로 이완되고 있음을 나타내었다(그림 6).

4) 교감신경 차단이 K-free contracture 에 미치는 영향

K-free contracture 발생에 조직내의 교감신경 말단의 영향이 있는지의 여부와 그 정도를 알기 위하여 두가지 방법을 이용하였다. 즉 K-free contracture 가 α -receptor blocker 인 phentolamine에 어떻게 반응하는가를 보았고, 또한 실험전에 동물을 reserpine 으로 처리하여 교감신경 말단에서 norepinephrine 을 고갈시킨 뒤 나선형 절편을 만들어 K-free Tyrode 용액에 노출시켜 반응을 관찰하였다. K-free contracture 를 일으킨 뒤 여기에 5 mg/l phentolamine 을 투여하자 즉시 정상수준으로 이완되었고(그림 7), reserpine 으

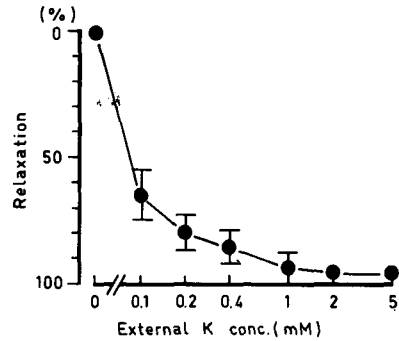


Fig. 6. Dose-dependent effect of external K on the relaxation of K-free contracture in rabbit renal artery (mean±SEM, n=8). Relaxation was expressed as percent of maximum contraction caused by 30 minute exposure to K-free Tyrode solution.

Rabbit renal helical strip

Temp. 35 °C
pH 7.35
Wet wt. 2.7 mg

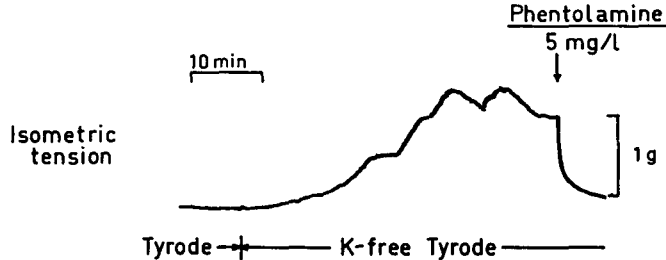


Fig. 7. The effect of α -blocker, phentolamine, on the K-free contracture. Addition of this blocker to bath resulted in rapid and complete relaxation of K-free contracture.

Rabbit renal helical strip

Temp. 35 °C
pH 7.35
Wet wt. 3.0 mg

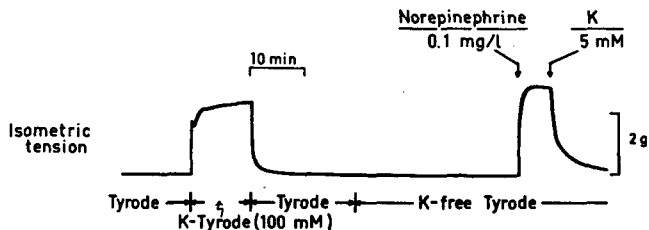


Fig. 8. The effect of deprivation and addition of catecholamine on K-free contracture of the renal artery. Rabbit was injected intraperitoneally with a large dose (5 mg/kg body wt.) of reserpine 18~24 hours prior to the experiment, in order to eliminate most catecholamine present in the sympathetic nerve terminals. By adding norepinephrine the contracture was brought promptly.

로 교감신경 말단에서 norepinephrine을 고갈시킨 경우에는 100 mM K-Tyrode 용액으로 K-경축현상은 변함없이 일어나고 있으나 K-free contracture는 전혀 나타나지 않고 있으며, 그러나 외부에서 투여한

norepinephrine에는 즉시 정상적인 수축반응을 보이고 있으며 여기에 5 mM K⁺투여로 즉시 빠른 속도로 이완반응을 보였다(그림 8). 이러한 실험결과는 K-free contracture 발생에 가장 중요한 부분은 혈관절편 조직 내의 교감신경 말단에서 유리되는 norepinephrine이 결정적인 역할을 하는 것으로 해석된다.

이와같은 사실을 그림 9에 종합적으로 표시하였다. 즉 외부에서 투여한 norepinephrine에 의한 수축반응은 α -차단제에 의하여서만 억제되고 있으며 K-경축에 대하여는 α -차단제나 reserpination의 효과는 별반 나타나지 않았으나 K-free contracture에는 뚜렷하게 α -차단제와 norepinephrine 고갈 효과가 나타났다.

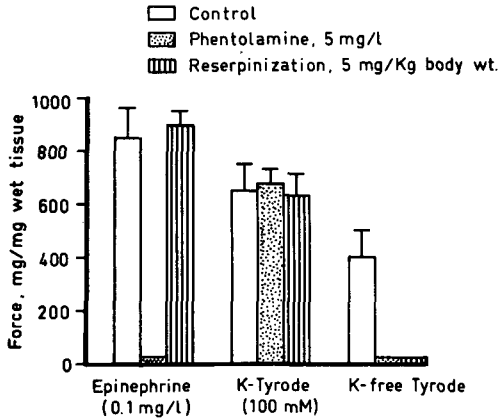


Fig. 9. Effects of adrenergic intervention on responses of rabbit renal helical strips to norepinephrine, to K-Tyrode, and to K-free Tyrode solution (mean \pm SEM, n=5). Phentolamine abolished the responses to norepinephrine and K-free Tyrode. Elimination of neuronal norepinephrine by reserpination has no effects on the responses to exogenous norepinephrine and K-Tyrode solution, but abolishes that to K-free stimulation.

고찰

혈관 평활근에서 세포내외의 각종 이온 농도경사를 유지하는 데에는 에너지대사의 개체가 필요하며, 온도를 낮추거나 대사 억제제 투여에 의하여 세포내 K⁺소실과 Na⁺축적이 일어나며, 다시 온도를 올리면 세포막을 경계로 정상적인 이온경사가 유지된다는 사실이 잘 알려져 있다. 또한 혈관 평활근 세포막에 Na-K ATPase가 존재하고, ouabain에 좌우되는 Na⁺유출과 K⁺유입 부분이 있으며 이 과정에 에너지가 필요함이 증명되어 있다(Joner, 1980). 이러한 여러가지 실험사실은 혈관 평활근 세포막에도 Na-K pump가 존재함을 입증하는 것이다.

혈관 평활근 세포막에 존재하는 Na-K pump는 막

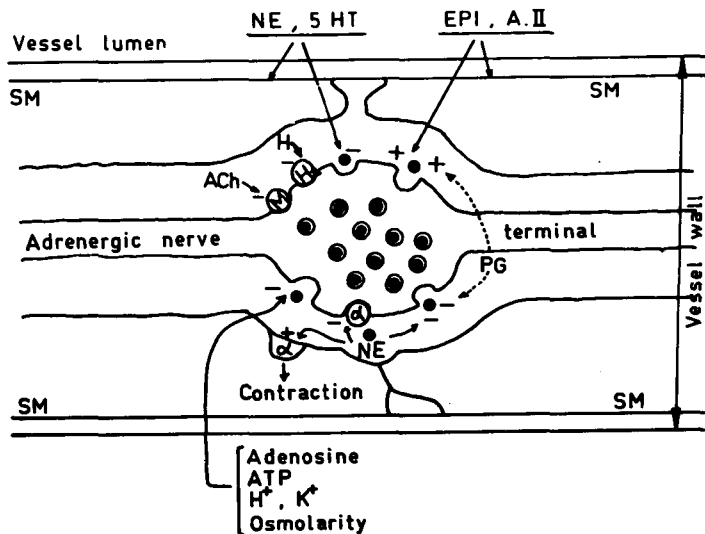


Fig. 10. Local modulation of adrenergic transmitter release in vascular smooth muscle.

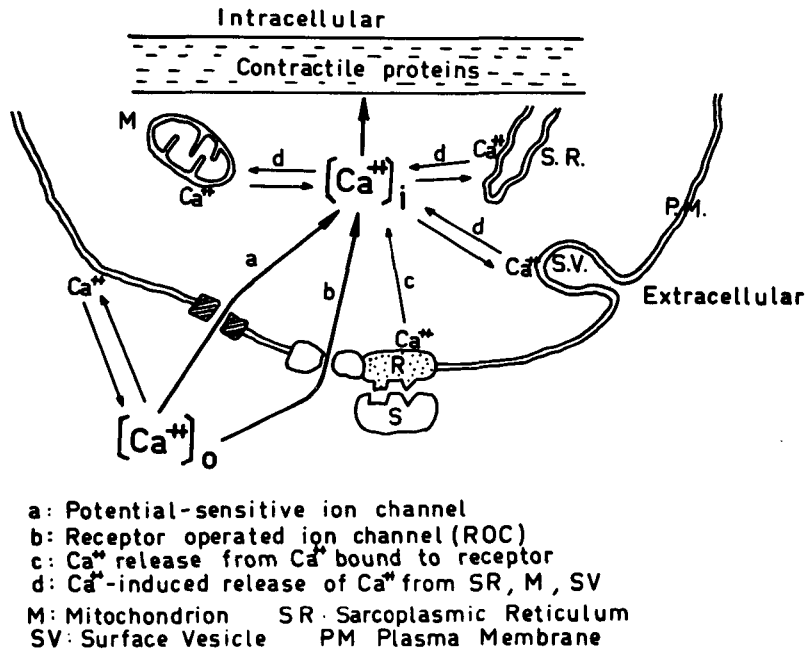


Fig. 11. Schematic representation of postulated Ca ion sources involved in contraction of smooth muscle (From Bolton, 1979).

전압형성 펌프(electrogenic pump)의 기능을 보유하고 있어 토끼경동맥에서 계산된 Na⁺유출/K⁺유입 비율은 3:2 정도임이 보고되고 있다(Heidlage and Jones, 1978). 이러한 막전압형성 펌프가 막전압형성에 기여하는 정도는 동물과 혈관의 종류에 따라 매우 다양하다. 예를 들어 rat aorta에서의 이 펌프의 potency는 매우 커서 ouabain으로 Na-K pump 기능을 억제시키려면 개나 토끼에서 보다 1000배 정도의 농도가 필요한 것이다.

Na-K pump를 억제시킬 목적으로는 흔히 온도를 낮추거나 K-free solution이나 ouabain 투여를 하게되는데 이렇게 처치하면 즉시 막전압이 감소하게 된다. 예를 들어 rat tail artery를 K-free solution에 노출시키면 10 mV 정도의 급격한 막전압 감소가 일어나며, 이러한 현상은 Nernst equation으로는 예측불가능한 사실이다. 그리고 오랫동안 K-free solution에 두었다가 다시 정상 Krebs solution으로 바꾸어 주자 곧 과분극(hyperpolarization)되는 것을 관찰하였다(Hendrickx and Casteels, 1974). K-free solution으로 Na-K pump가 오랫동안 억제되었다가 K⁺투여로 이 펌프가 활성화될 때 ion flux에 영향을 주는 인자로는 세

포의 K⁺농도와 세포내 Na⁺농도가 중요하다. 이러한 사실은 K-free solution에 혈관을 노출시키는 시간의 길고 짧음에 따라 K⁺투여시의 electrogenic potential의 크기가 달라질 수 있음을 예측할 수 있다(Jones, 1976; Heidlage and Jones, 1978).

본 실험에서 Na-K pump 억제 목적으로 사용된 K-free Tyrode Solution으로 경축이 일어났는데 이러한 K-free contracture 발생기전에 관하여는 몇가지 설명이 있다.

1) 혈관 조직내의 내원성 교감신경 말단에서 norepinephrine (NE) 유리가 축적되어 발생된다는 설과(Bonaccorsi et al., 1977; Suzuki and Kuriyama, 1980),

2) K-free Tyrode 용액에서는 Na-K pump가 억제되어 세포내 Na⁺이 축적되어 세포내외의 Na⁺경사가 줄어들면 Na-K 교환기전의 저하로 피동적으로 들어간 Ca⁺⁺배출이 감소되어 결과적으로 세포내 Ca⁺⁺이 증가되어 수축이 일어난다는 설(Reuter et al., 1973; Blaustein, 1976, 1977),

3) 이러한 Na-K 교환기전에 의한 설명에 대하여 세포내외의 Na⁺농도 경사감소로 피동적인 Ca⁺⁺유입이 축적되어 수축이 일어난다(Droogmans and Casteels,

1979)는 증거도 있다.

4) Na-K pump는 보통 막전압 형성의 기능을 보유하고 있는 바 이의 기능이 억제되어 탈분극이 일어나 경축이 일어날 수 있다(Casteels et al, 1971; Tomita and Yamamoto, 1971)는 설,

5) 또한 K-free Tyrode 용액에서는 K-투과성이 저하되어 막전압이 Na-평형 전압쪽으로 변하므로 탈분극이 일어나서 수축이 일어난다는 주장(Wahlström, 1971)도 있다.

본 실험에서 K-free contracture가 억제되었고, reserpine 처리로 조직내 교감신경 말단에서 NE를 고갈시킨 경우, K-free contracture가 전혀 나타나지 않은 실험사실은 신동맥의 K-free 경축 발생에는 내원성 교감신경 말단에서 유리되는 NE에 의하여 일어난다고 해석된다.

Ca⁺⁺은 혈관 평활근의 수축성에 간접적 혹은 직접적인 방법으로 영향을 미치고 있다. 즉 혈관조직내에 매몰되어 있는 교감신경 말단에서 NE 유리에 영향을 미쳐 간접적으로 수축성에 효과를 나타내며(Boullin, 1972; Kirpekar et al., 1972; Reuter et al., 1973) 또한 NE이나 angiotensin II와 같은 혈관 수축제가 작용을 나타내려면 Ca⁺⁺유입이 뒤따라야 하므로 세포의 Ca⁺⁺은 혈관수축에 직접적으로 작용하고 있다(Hinke, 1965; Somlyo and Somlyo, 1968).

본 실험에서 보면 K-free Tyrode에서 Ca⁺⁺을 완전히 제거시킨 용액에서는 K-free Contracture가 전혀 발생되지 않았으나 Ca⁺⁺을 실험용기에 다시 투여하자 즉시 경축이 발생하였다. 정상적인 Ca⁺⁺농도에서의 K-free contracture의 발생속도가 완만한데 비하여, Ca⁺⁺투여에 의하여 발생하는 수축속도가 매우 빨라서 외부에서 투여한 NE에 대한 수축반응 속도와 거의 비슷한 점은 NE가 Ca⁺⁺제거 용액에서 신경말단에서 유리되는 되었으나 평활근은 수축시킬 수가 없었음을 암시해주고 있다.

미세전극을 이용한 실험에 의하면 guinea pig의 장관막 동맥 절편은 정상 막전압 -68.6 mV이던 것이 K-free Tyrode 용액으로 갈아주면 10~15분 후에는 15.21 mV 정도 탈분극 되었다가 다시 K⁺이 들어있는 정상 용액으로 갈아주자 -80 mV까지 과분극되는 현상을 보였다. 이러한 현상은 10⁻⁶M ouabain에 의하여 억제되는 것으로 보아서 막전압형성 펌프 기전이 활성화되어 과분극된 것으로 해석되었다(Suzuki and Kuriyama, 1980).

이와 비슷한 실험결과는 rat tail artery 절편에서도

보고되고 있다. 즉 K-free 용액에서는 -52 mV에서 -24 mV로 막전압이 탈분극되었으나 30 mM K⁺을 투여하자 -51 mV로 다시 과분극되었는 바, 세포내외의 K⁺농도로 계산한 평형전압은 -45 mV인데 반하여 보다 과분극된 점으로 미루어 막전압 형성 펌프기전이 촉진된 결과로 해석하였다(Bonaccorsi et al., 1977).

본 실험에서도 K-free contracture가 K⁺재투여로 즉시 이완되었으며, 외부에서 투여한 NE에 의한 수축도 K⁺을 다시 첨가하자 마치 α -차단제에 의한 이완속도와 거의 비슷한 빠르기로 이완되었다. 이와같은 현상은 역시 막전압 형성 펌프기전의 활성화로 일어나는 과분극으로 말미암아 경축에서 이완되는 것으로 해석된다.

세포의 K⁺농도가 정상 생리적 범위내에서 증가하면 혈관 평활근을 이완시키는데 이러한 기전은 반응성충혈(reactive hyperemia)에 중요한 역할을 할 것으로 추측되며 이것은 K⁺투과성 증가로 과분극 상태가 일어나거나(Anderson et al., 1972; Norton and Detar, 1972; Wahlström, 1971), 막전압형성 펌프기전이 활성화되어 과분극됨으로써 이완된다고 설명하고 있다(Anderson, 1976; Bonaccorsi et al., 1977; Lockette et al., 1980; Detar, 1980).

세포의 K⁺농도를 15 mM 이상으로 높이면 지속성 수축인 경축을 일으키는데(K-contracture), 이것은 Na-K pump가 세포의 K⁺이 15~20 mM에서는 포화되어 세포의 K⁺농도 증가는 K⁺의 피동적인 유출량을 감소시켜 Nernst equation에 따라 탈분극을 일으키게 됨으로써 potential-sensitive Ca⁺⁺ channel을 통하여 Ca⁺⁺유입과 세포내 Ca⁺⁺저장고로부터 Ca⁺⁺이 유리되어 K-경축이 일어나는 것으로 보고있다(Kim et al., 1979).

NE는 세포막을 탈분극 시키는 일이 없이 폐동맥을 수축시킨다는 결과가 Su 등(1964)에 의하여 보고되었고, 토끼의 폐동맥에서 보면 norepinephrine 농도가 10⁻⁸M 이하에서는 막전압의 변화없이도 수축을 일으키나 2×10⁻⁸M 이상에서는 크기가 증가하였다. 이때 저농도에서의 수축은 유입에 의존하나 고농도에서는 Ca⁺⁺유입과 저장 Ca⁺⁺유리가 모두 증가한다(Casteels et al., 1977). 본 실험에서도 보면 K-free contracture의 장력발생 크기가 Ca⁺⁺에 크게 좌우되고 있으며 또한 Ca⁺⁺유입 차단제인 verapamil에 의하여 억제되는 사실은 위의 설명과 잘 부합되는 결과로 생각된다.

결 론

혈관 평활근의 수축력은 근장내 Ca⁺⁺에 좌우되고 이것은 많은 인자들에 의하여 좌우되고 있으나 그중의 중요한 인자로서 막전압형성의 성질을 가진 Na-K pump 기능에 의하여 조절됨이 알려져 있다. 그러나 Na-K pump의 기능을 보이는 Na-K ATPase 활성도는 동물, 혈관종류에 따라 많은 차이점을 보이고 있어 수축반응 양상의 차이점이 보고되고 있다.

본 실험은 저항혈관종의 하나인 토끼 신동맥의 나선형 절편을 실험재료로 하여 Na-K pump가 이 동맥 수축성에 어떻게 영향을 미치는가를 관찰하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1) Na-K pump 억제 목적으로 처리한 K-free Tyrode solution에서 지속적 수축인 경축반응을 나타내었다 (K-free contracture).

2) K-free contracture의 크기는 100 mM K-Tyrode로 일으킨 K-경축과 비교할 때 62% 정도의 크기를 나타내었다.

3) K-free contracture는 세포의 Ca⁺⁺을 제거시킨 용액에서는 발생되지 않았고, Ca⁺⁺첨가로 농도에 비례하여 즉시 수축반응이 강화되었다.

4) 이것은 α-차단제로 완전 억제되었고, reserpine으로 내원성 norepinephrine을 고갈시킨 경우에는 전혀 발생되지 않았다.

5) K-free contracture는 K⁺채투여로 즉시 이완되었으며, 외원성 norepinephrine으로 일으킨 수축반응도 K⁺투여에 의하여 즉시 이완되었다.

이와같은 실험결과는 신동맥에서의 K-free contracture는 내원성 신경말단에서 유리되는 norepinephrine에 의하여 경축현상이 발생하는 것으로 해석되며, 혈관 평활근 세포막의 Na-K pump의 활성화로 경축이 풀리는 것으로 사료된다.

REFERENCES

Anderson, D.K.: *Cell potential and the Na-K pump in vascular smooth muscle. Fed. Proc.*, 35: 1294-1297, 1976.

Anderson, D.K., Roth, S.A., Brace, R.A., Brace, R.A., Radawski, D., Haddy, F.J. and Scott, J.B.: *Effect of hypokalemia and hypomagnesemia produced by hemodialysis on vascular*

resistance in canine skeletal muscle. Circ. Res., 31:165-173, 1972.

Blaustein, M.P.: *Sodium ions, calcium ions, blood pressure regulation, and hypertension: a reassessment and a hypothesis. Am. J. Physiol.*, 232:C165-173, 1977.

Bohr, D.F.: *Vascular smooth muscle: Dual effect of calcium. Science*, 139:597-599, 1963.

Bohr, D.F.: *Electrolytes and smooth muscle contraction. Pharmacol. Rev.*, 16:85-111, 1964.

Bohr, D.F.: *Vascular smooth muscle updated. Circ. Res.*, 32: 665-672, 1973.

Bolton, T.B.: *Mechanisms of action of transmitters and other substances on smooth muscle. Physiol. Rev.*, 59:606-718, 1979.

Bonaccorsi, A., Hermsmyer, K., Aprigliano, O., Smith, C.B. and Bohr, D.F.: *Mechanism of potassium relaxation of arterial muscle. Blood Vessels*, 14:261-276, 1977.

Bonaccorsi, A., Hermsmyer, K., Smith, C.B. and Bohr, D.F.: *Norepinephrine release in isolated arteries induced by K-free solution. Am. J. Physiol.*, 232:H140-145, 1977.

Boullin, D.J.: *The action of extracellular cations on the release of the sympathetic transmitter from peripheral nerves. J. Physiol. (London)*, 189:85-99, 1967.

Casteels, R., Droogmans, C. and Hendrick, H.: *Membrane potential of smooth muscle cells in K-free solution. J. Physiol. (London)*, 217: 281-295, 1971.

Casteels, R., Kitamura, K., Kuriyamura, H., and Suzuki, H.: *Excitation-contraction coupling in the smooth muscle cells of the rabbit main pulmonary artery. J. Physiol.*, 271:63-79, 1977.

DeGubareff, T. and Sleator, W. Jr.: *Effects of caffeine on mammalian atrial muscle, and its interaction with adenosine and calcium. J. Pharmacol. exp. Ther.*, 148:202-214, 1965.

Detar, R.: *Mechanism of physiological hypoxia-induced depression of vascular smooth muscle contraction. Am. J. Physiol.*, 238:H761-769, 1980.

- Droogmans, G. and Casteels, R.: *Sodium and calcium interactions in vascular smooth muscle cells of the rabbit ear artery*. *J. Gen. Physiol.*, 74:57-70, 1979.
- Fleckenstein, A.: *Specific pharmacology of calcium. in :myocardium, cardiac pacemakers, and vascular smooth muscle*. *Ann. Rev. Pharmacol.*, 17:145-166, 1977.
- Furchgott, R.F. and Bhadrakom, S.: *Reactions of strips of rabbit aorta to epinephrine, isopropylarterenol, sodium nitrite and other drugs*. *J. Pharmacol. exp. Ther.*, 108:129-143, 1953.
- Haeusler, G.: *Differential effect of verapamil on excitation-contraction coupling in smooth muscle and on excitation-secretion coupling in adrenergic nerve terminals*. *J. Pharmacol. exp. Ther.* 180:672-682, 1972.
- Hendrickx, H., and R. Casteels: *Electrogenic sodium pump in arterial smooth muscle cells*. *Pflügers Arch. European J. Physiol.* 346:299-306, 1974.
- Heidlage, J.F., and A.W. Jones: *Dependence of Na and K transport on extracellular K concentration in normal and Na-loaded vascular smooth muscle*(Abstract). *Fed. Proc.* 37:917, 1978.
- Hong, S.W.: *Action of angiotensin II on the vascular smooth muscle in isolated rabbit aorta*. *Seoul J. Med.* 21(3): 281-290, 1980.
- Hinke, J.A.M.: *Calcium requirements for noradrenaline and high potassium ion contraction in arterial smooth muscle*. In *muscle*, edited by Paul, W.M., Daniel, E.E., Kay, C.M. and Monkton, G. pp. 269-285, London: Pergamon, 1965.
- Hinke, J.A.M. and Wilson, M.L.: *Effects of electrolytes on contractility of artery segments in vitro*. *Am. J. Physiol.*, 203:1161-1166, 1962.
- Jones, A.W.: *K-stimulated Na transport in aortic smooth muscle and changes with DOC hypertension in rats*(Abstract). *Fed. Proc.* 35:698, 1976.
- Jones, A.W.: *Content and fluxes of electrolytes*. In *Handbook of Physiology, Section 2: The Cardiovascular System, Volume II. Vascular Smooth Muscle*, 1980.
- Kirpekar, S.M., Prat, J.C., Puig, M. and Wakade, A.R.: *Modification of the evoked release of noradrenaline from the perfused cat spleen by various ions and agents*. *J. Physiol.(London)*, 221:601-615, 1972.
- Kohlhardt, M., Bauer, P., Krause, H. and Fleckenstein, A.: *Differentiation of the transmembrane Na and Ca channel in mammalian cardiac fibers by the use of specific inhibitors*. *Pflügers Arch. ges. Physiol. Menschen Tiere*, 335:309-322, 1972.
- Kim, K.W., and C.W. Kim: *Responses of coronary smooth muscle to acetylcholine*. *Seoul J. Med.* 19(4): 198-204, 1978.
- Kim, K.W., S.I. Hwang and K.Y. Nam: *Different mechanisms of K-induced contracture in isolated vascular and intestinal smooth muscles*. *Korean J. Physiol.* 13:41-50, 1979.
- Kuriyama, H., Ito, Y. and Suzuki, H.: *Effects of membrane potential on activation of contraction in various smooth muscle in Excitation-Contraction Coupling in Smooth Muscle*. eds. Casteels, R. et al. pp. 25-35, Elsevier/North-Holland Biomedical Press, 1977.
- Lang, S. and M.P. Blaustein: *The role of the sodium pump in the control of vascular tone in the rat*. *Circ. Res.* 46:463-470, 1980.
- Leonard, E.: *Alteration of contractile response of artery strips by a potassium-free solution, cardiac glycosides and changes in stimulus frequency*. *Am. J. Physiol.*, 189:185-190, 1957.
- Lockette, W.E., Webb, R.G. and Bohr, D.F.: *Prostaglandins and potassium relaxation in vascular smooth muscle of the rat: the role of Na-K ATPase*. *Circ. Res.*, 46:714-720, 1980.
- Mekata, F. and Niu, H.: *Biophysical effects of adrenaline on the smooth muscle of the rabbit common carotid artery*. *J. Gen. Physiol.*, 59:

- 92-102, 1972.
- Norton, J.M. and Detar, R.: *Potassium and isolated coronary vascular smooth muscle*. *Am. J. Physiol.*, 222:474-479, 1972.
- Prosser, C.L.: *Smooth muscle*. *Ann. Rev. Physiol.*, 36:503-533, 1974.
- Reuter, H., Blaustein, M.P. and Haeusler, G.: *Na-Ca exchange and tension development in arterial smooth muscle*. *Phil. Trans. Roy. Soc., London Ser. B*, 265:87-94, 1973.
- Rüegg, J.C.: *Smooth muscle tone*. *Physiol. Rev.*, 51:201-248, 1971.
- Sandow, A.: *Excitation-contraction coupling in skeletal muscle*. *Pharmacol. Rev.*, 17:265-320, 1965.
- Sitrin, M.D. and Bohr, D.F.: *Ca and Na interaction in vascular smooth muscle contraction*. *Am. J. Physiol.*, 220:1124-1128, 1971.
- Skanug, N. and R. Detar: *Contractility of vascular smooth muscle: maximum ability to contract in response to a stimulus*. *Am. J. Physiol.* 240: H979, 1981.
- Somlyo, A.P. and Somlyo, A.V.: *Vascular smooth muscle. I. Normal structure, pathology, biochemistry and biophysics*. *Pharmacol. Rev.*, 20:197-272, 1968.
- Somlyo, A.P. and Somlyo, A.V.: *Vascular smooth muscle. II. Pharmacology of normal and hypertensive vessels*. *Pharmacol. Rev.*, 22:249-353, 1970.
- Stekhoven, F.S. and S.L. Bonting: *Transport adenosine triphosphatases: Properties and functions*. *Physiol. Rev.* 61(1):1-76, 1981.
- Su, C., Bevan, J.A. and Ursillo, R.C.: *Electrical quiescence of pulmonary smooth muscle during sympathomimetic stimulation*. *Circ. Res.*, 15: 20-27, 1964.
- Suzuki, H. and Kuriyama, H.: *Observation of quantal release of ncradrenaline from vascular smooth muscles in potassium-free solution*. *Jap. J. Physiol.* 30:665-670, 1980.
- Tomita, T. and Yamamoto, T.: *Effects of removing the external potassium on the smooth muscle of guinea pig taenia coli*. *J. Physiol. (London)*, 212:851-868, 1971.
- Van Breemen, A., Aaronson, P. and Loutzenhiser, R.: *Sodium-calcium interactions in mammalian smooth muscle*. *Pharmacol. Rev.*, 30:167-208, 1979.
- Wahlström, B.: *Effects of changes in the ionic environment on venous smooth muscle distribution of sodium and potassium*. *Acta Physiol. Scand.*, 82:382-392, 1971.