

# 칼슘, 베라파밀, 란타넘이 흰쥐 자궁근의 자발적 수축과 칼륨 경축에 미치는 효과

서울대학교 의과대학 생리학교실

<지도 신 동 훈 교수>

황 상 익

Abstract=

## Effects of $\text{Ca}^{++}$ , Verapamil and $\text{La}^{+++}$ on the Spontaneous Contraction and K-contracture in the Isolated Rat Uterine Smooth Muscle

Sang Ik Hwang

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

(Directed by Professor Dong Hoon Shin)

The effects of  $\text{Ca}^{++}$  and its antagonists (verapamil and  $\text{La}^{+++}$ ) upon the spontaneous contraction and the contracture induced by 60 mM K-Tyrode solution were studied in the isolated uterine muscle. Longitudinal muscle strips were prepared from the rat uteri at estrous stage. All experiments were performed in tris-buffered Tyrode solution which was aerated with 100%  $\text{O}_2$  and kept at 35°C.

The results obtained were as follows:

1) In the uterine strips contracting spontaneously, both the amplitude of peak tension and the area of contraction curve increased dose-dependently in the range of 0.5~8 mM  $\text{Ca}^{++}$ . The frequency of contraction increased as the concentration of  $\text{Ca}^{++}$  increased up to 2 mM, but above this concentration the frequency decreased. In  $\text{Ca}^{++}$ -free media, however, contraction did not develop. In the contracture induced by 60 mM K-Tyrode solution, the developed tension increased dose-dependently as the concentration of external  $\text{Ca}^{++}$  increased to 8 mM. In the absence of external  $\text{Ca}^{++}$  K-contracture appeared, but it was not sustained.

2) The spontaneous contraction of rat uterus was suppressed by verapamil in proportion to an increase of its concentration and totally abolished at the concentration of  $3 \times 10^{-4}$  g/l, but the spontaneous contraction re-appeared by addition of  $\text{Ca}^{++}$ . The amplitude of peak tension recovered completely but the recovery of frequency was incomplete.

K-contracture decreased in a dose-dependent manner after the treatment with verapamil and totally disappeared at its concentration of  $3 \times 10^{-4}$  g/l. Even in this case contracture developed again by extra  $\text{Ca}^{++}$ .

3) The spontaneous contractile activity was inhibited by  $\text{La}^{+++}$ . At the concentration of  $10^{-4}$ M  $\text{La}^{+++}$ , fibrillation appeared. In the strip inhibited by  $10^{-5}$ M  $\text{La}^{+++}$ , contractility recovered completely by extra  $\text{Ca}^{++}$  while in the  $10^{-4}$ M  $\text{La}^{+++}$  treated preparation, the rhythmic spontaneous contraction did not develop even at the concentration of 16 mM  $\text{Ca}^{++}$ .

After the initial transient depression of contracture tension by  $10^{-3}M$  of  $La^{+++}$ , the strip showed considerably large size of contracture, hardly influenced by external  $Ca^{++}$  or verapamil.

The results obtained in this experiment suggest that in the rat uterine muscle there would be some competitive actions between  $Ca^{++}$  and its antagonists. It is speculated that  $Ca^{++}$  plays an important role in the conduction of excitation, and  $La^{+++}$  influences upon cellular  $Ca^{++}$  mobilization and re-uptake process as well as transmembrane  $Ca^{++}$  transport in a K-depolarized state.

## 서 론

근육이 수축하려면 세포막에 생긴 흥분이 세포내 수축기구들의 상호 작용으로 바뀌어야 하는바, 이러한 흥분-수축 연결(excitation-contraction coupling) 과정에 칼슘이온이 중요한 매체 역할(coupler)을 하는 것은 잘 알려져 있다(Edman과 Schild, 1962; Bohr, 1964; Hodgson과 Daniel, 1973). 즉 근육 세포막에 활동전압이 생기거나 칼륨 경축(K-contraction) 때와 같이 세포막이 저분극되면(Bengtsson, 1977) 여러 공급원으로부터 칼슘이 세포질 내로 유리되어 수축단백질을 활성화시켜 수축이 일어나고 그것이 다시 회수되면 근육이 이완된다.

골격근에서는 흥분-수축 연결 물질로서의 칼슘 공급을 근장그물(sarcoplasmic reticulum) (Sandow, 1965), 미토콘드리아 등 세포내 저장고에 거의 전적으로 의존하는데 비해, 평활근에서는 그것의 발달이 뚜렷하지 않으며(Kuriyama 등, 1977) 세포막에 결합되어 있는 것과 세포외액의 칼슘이 중요한 공급원으로 지적되고 있다(Prosser, 1974; Popescu, 1977; Yamashita 등, 1977; Triggle 등, 1979). 이를 지지하는 사실로 평활근에서는 세포외액에 칼슘이 없는 경우 자발적 수축이 없어지는 등 세포외액의 칼슘이 수축성에 매우 큰 영향을 미친다는 보고들이 있다(Burnstock 등, 1963; Fleckenstein, 1977).

또한 칼슘은 주로 나트륨 투과성을 변화시켜(Kuriyama, 1968) 세포막의 흥분성(excitability)을 조절하며(Osa, 1973) 흥분 전도에도 중요한 구실을 하고(Bülbring과 Tomita, 1970) 활동전압의 내향전류(inward current)에도 직접 참여하는(Bülbring과 Kuriyama, 1963; Abe, 1971; Daniel과 Janis, 1975) 등 평활근 활동의 여러 단계에 관여하여 그 작용이 단순하지 않으므로 칼슘이온 효과의 해석에 어려운 점이 많다.

베라파밀(verapamil, Isoptin<sup>®</sup>)은 칼슘이온의 억제제( $Ca^{++}$  antagonist)로서 포유류 심장근(Kohlhardt

등, 1972) 및 소화관 근육, 혈관 평활근 등에서(Fleckenstein과 Grün, 1969; Bohr, 1973; Fleckenstein, 1977) 세포막을 통한 칼슘이온의 유입( $Ca^{++}$  influx)을 선택적으로 막아 수축성을 떨어뜨리는 작용이 있는 것으로 알려져 있다.

탄타눔이온도 역시 칼슘이온의 억제제로서 세포막 바깥쪽에 결합되어 있는 칼슘을 제거하고 그 유입 및 유출(efflux)을 모두 막는 것으로 알려져 있다(van Breemen, 1969; van Breemen 등, 1972).

평활근 수축성에 대한 칼슘이온의 작용을 밝히기 위하여 이 논문에서는 흰쥐 자궁근 조각을 사용, 자발적 수축(spontaneous contraction)에 미치는 칼슘과 그 억제제인 베라파밀, 탄타눔의 작용을 관찰하였다. 또한 흥분의 전도에 대한 영향이 배제된 단일 세포(single cell)에서의 작용을 알고자, 그와 비슷한 상태를 만들기 위하여(Osa, 1975) 60mM 칼륨으로 경축을 일으켜 여기에 미치는 칼슘과 그 억제제의 효과를 살펴보았다.

## 실험 방법

체중 200g 안팎의 흰쥐(Sprague-Dawley 계) 암컷을 경동맥을 절단, 실험시켜 희생시킨 후 배를 열어 자궁을 채빨리 빼어내었다. 100% 산소로 평형을 이루고 pH 7.35 인 실온의 tris-완충 Tyrode 용액(NaCl 158, KCl 4,  $CaCl_2$  2,  $MgCl_2$  1, Glucose 5.5, Tris 10mM, 12N HCl로 적정)이 들어 있는 준비 용기 속에서 둘째 조직을 뜯어내고 자궁을 길이로 잘라 길이 약 12mm, 나비 약 2mm, 무게 30~40mg의 자궁근 조각을 만들어 충분히 이완된 상태에서 1시간 동안 방치하여 수술 상처로부터 회복시킨 뒤 길이 5.0 가량의 가는 실로 조각의 양쪽 끝을 근육고정기에 묶고 다시 30분 동안 안정시켰다.

자궁근 조각을 100% 산소로 평형이 이루어진 pH 7.35, 35°C의 tris-완충 Tyrode 용액이 들어 있는 이중병(제제는 루사이트)으로 된 실험용기(용량 100ml)에 옮겨 근육고정기와 등장성 수축변환기(isometric force transducer, FT 03, Grass 제)를 연결, 기록기(Device

제)에 기록하게 하고 1 시간 동안 회복시켰다. 충분히 이완된 상태에서부터 단계적으로 근육의 길이를 늘여가며 길이-장력 곡선을 그려 가장 큰 장력이 발생하는 최적길이(optimal length)를 구해 이 길이에서 실험을 하였다.

자발적 수축을 하는 자궁근 실험군에서 실험용액의 칼슘 농도를 0 mM 부터 16 mM 까지 단계적으로 높이면 수축성의 변화를 관찰하였다. 또한 정상 Tyrode 용액에 베라파밀을  $10^{-6}$ g/l 부터  $3 \times 10^{-3}$ g/l 까지, 탄타늄을  $10^{-6}$ M 부터  $10^{-3}$ M 까지 단계적으로 농도를 높여가며 수축성의 변화를 관찰하였고 이들 억제제로 근육 수축이 상당히 억제된 상태에서 칼슘을 추가 투여하며 수축이 회복되는 모습을 관찰하였다. 수축성의 변화는 수축곡선의 면적(area of contraction curve), 장력의 크기(amplitude of peak tension), 수축빈도(frequency of contraction) 및 단위 시간에 발생하는 총장력(total tension/unit time, 즉 수축빈도×수축곡선의 면적)을 측정하여 비교하였다.

또한 흥분성에 대한 효과를 배제하기 위하여 60 mM K-Tyrode 용액(NaCl 102, KCl 60, CaCl<sub>2</sub> 2, MgCl<sub>2</sub> 1, Glucose 5.5, Tris 10 mM, 12N HCl로 적정)으로 칼륨 경축을 일으킨 실험군에서 칼슘 농도를 0 mM 부터 8mM 까지 단계적으로 변화시키며 장력의 변화를 관찰하였다. 그리고 60mM K-Tyrode 용액에 베라파밀을  $10^{-6}$ g/l 부터  $3 \times 10^{-3}$ g/l 까지, 탄타늄을  $10^{-5}$ M 부터  $10^{-3}$ M 까지 단계적으로 농도를 높여가며 장력의 변화를 관찰하였고, 이때 다시 칼슘을 추가 투여하며 그 효과를 관찰하였다.

실험군에서 얻은 값은 칼슘 농도 2mM 인 정상 Tyrode 용액과 60 mM K-Tyrode 용액에서 얻은 대조값에 대한 백분율로 나타내었다.

## 실 험 성 적

### 1) 세포외액의 칼슘이 자궁근 수축성에 미치는 효과

#### (1) 칼슘과 자발적 수축 :

자발적으로 수축하는 자궁근에서 세포외액의 칼슘을 제거하면(Ca-free Tyrode 용액, EGTA 0.1 mM 첨가) 수축이 전혀 일어나지 않았다(Fig. 1A). 여기에 칼슘을 0.5 mM 가하면 곧 수축이 생겨났고, 칼슘 농도가 증가함에 따라 수축곡선의 면적과 장력의 크기는 커졌으며, 수축빈도는 2 mM 에서 최대값을 보였고 그 이상의 농도에서는 다시 점차 감소하였다. 칼슘 농도 8mM

에서부터 기초장력(basal tone)의 증가를 보였고 16 mM 에서는 크기와 빈도에서 불규칙한 모습을 나타내었다. 기록지 속도를 빨리하여 보면 최대 장력에 도달하는 속도와 수축의 지속기간 모두 칼슘 농도 증가에 따라 커지고 길어졌다.

이 성적을 정상 칼슘 농도인 2 mM 에서의 값에 대한 백분율로 나타내었다(Fig. 1B). 수축곡선의 면적은 세포외액의 칼슘 농도 0.5 mM 에서  $51 \pm 4(\%)$ (평균±표준오차, 이하 같음, n=6), 1, 2, 4, 8 mM 에서 각각  $78 \pm 4$ ,  $100$ ,  $148 \pm 8$ ,  $225 \pm 9(\%)$ 로 농도 증가에 따라 점차 커졌다. 장력의 크기도 0.5, 1, 2, 4, 8 mM 에서 각각  $74 \pm 4$ ,  $91 \pm 5$ ,  $100$ ,  $118 \pm 5$ ,  $129 \pm 4(\%)$ 로 농도 증가에 따라 뚜렷이 증가하였으나 그 정도는 수축곡선의 면적 증가에 비해서는 작았다. 한편 수축빈도는 0.5 mM 에서  $80 \pm 2(\%)$ , 1 mM 에서  $87 \pm 3(\%)$ , 2 mM 에서  $100(\%)$ 로 점차 커지나 그 이상의 농도인 4, 8 mM 에서는  $86 \pm 4$ ,  $63 \pm 6(\%)$ 로 오히려 감소하였다. 그리고 총장력은 정상 칼슘 농도인 2 mM 에서의 값에 대해 0.5 mM 에서  $41 \pm 6(\%)$ , 1 mM 에서  $68 \pm 7(\%)$ , 4 mM 에서  $129 \pm 5(\%)$ , 8 mM 에서  $142 \pm 7(\%)$ 로 칼슘 농도 증가에 따라 증가하였다.

#### (2) 칼슘과 칼륨 경축 :

정상 Tyrode 용액에서 NaCl 을 빼고 같은 mole 의 KCl 을 더해 실험용액의 칼륨 농도를 높이면서 발생하는 장력의 크기를 관찰하여 100 mM 에서의 값에 대한 백분율로 나타내었다(Fig. 2). 칼륨 농도를 정상 4 mM 로부터 10, 20, 30, 40, 60 mM 로 증가시키에 따라 장력의 크기는 각각  $3 \pm 2$ ,  $5 \pm 2$ ,  $11 \pm 3$ ,  $55 \pm 6$ ,  $96 \pm 3(\%)$ (n=7)로 커져 100 mM 에서 최대값에 이르렀고 120 mM 에서는  $88 \pm 4(\%)$ 로 오히려 감소하였다. 따라서 이 실험에서는 거의 최대의 장력을 나타내는 등장성 60 mM K-Tyrode 로 경축을 일으키고 세포외액의 칼슘 농도 변화와 칼슘 억제제의 효과를 관찰하였다.

정상 Tyrode 용액에서 칼슘만을 제거한 Ca-free Tyrode 용액(EGTA 0.1 mM 포함) 속에 자궁근을 10 분 동안 있게 한 뒤 칼슘을 땀 60 mM K-Tyrode 용액(Ca-free K-Tyrode 용액, EGTA 0.1 mM 포함)으로 갈아주자 곧 칼륨 경축이 나타났으나 장력을 유지하지 못하고 계속 멀어졌다(Fig. 3A). 장력이 완전히 사라진 뒤 여기에 0.5 mM 의 칼슘을 더하자 경축이 생겨 잘 유지되었고 8 mM 까지 단계적으로 칼슘 농도를 높여감에 따라 경축의 크기도 증가하였다. 그리고 정상 Tyrode 용액으로 바꿔주자 곧 경축이 사라지는 것으로 보아 이러한 칼륨 경축은 가역적인 현상(reversible

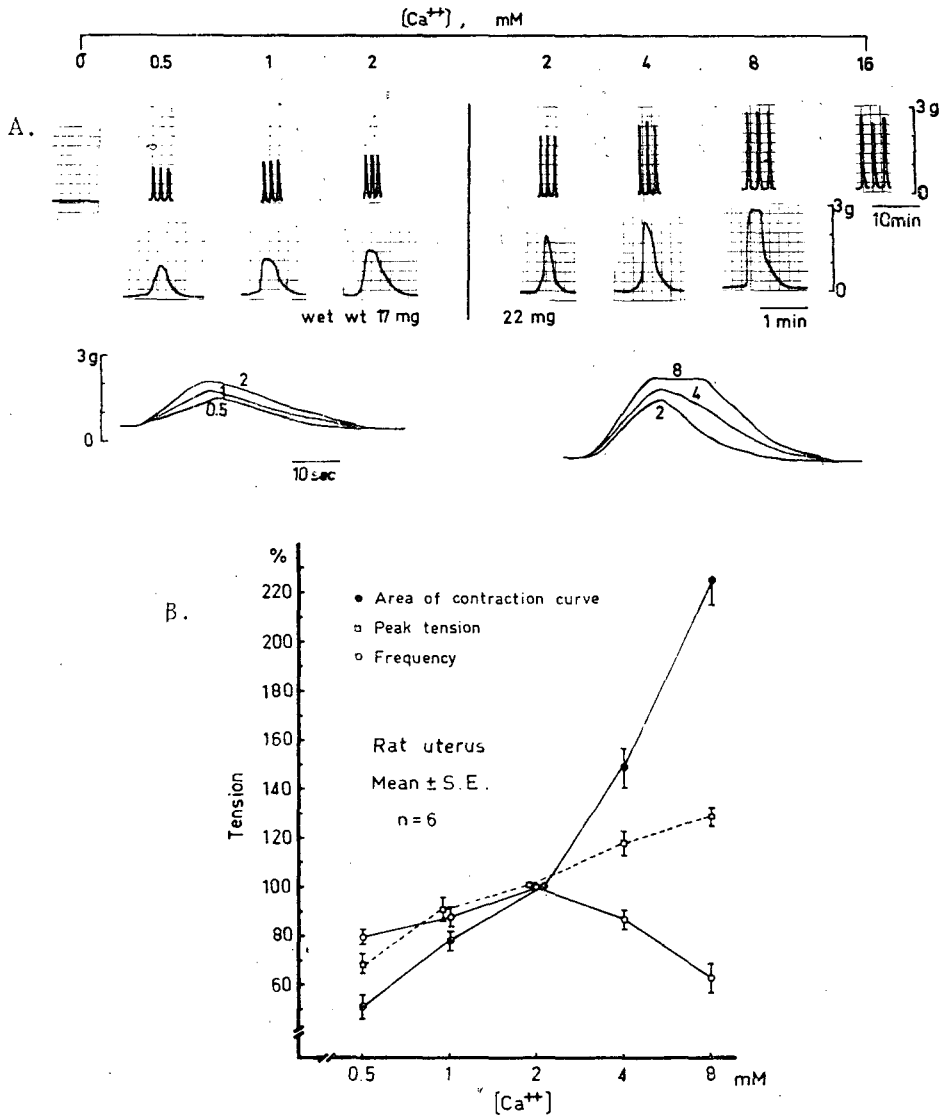


Fig. 1. Effects of Ca<sup>++</sup> on the spontaneous contractions in the rat uteri. Both the amplitude of peak tension and the area of contraction curve increased dose-dependently in the range of 0.5~8 mM Ca<sup>++</sup>. The frequency of contraction increased as the concentration of Ca<sup>++</sup> increased up to 2 mM, but above this concentration the frequency decreased. In Ca<sup>++</sup>-free media, however, contraction was not developed. Both the duration of contraction and the rate of tension development (dP/dt) increased in proportion to an increase of Ca<sup>++</sup> concentration.

phenomenon)으로 생각할 수 있겠다.

이 성적을 정상 칼슘 농도인 2 mM에서의 값에 대한 백분율로 나타내었다(Fig. 3B). K-Tyrod 용액 속의 칼슘 농도가 0 mM(EGTA 0.1 mM 포함)일 때 처음에는 대조값의 61±1%(n=6) 크기의 장력을 발생하지만 곧 서서히 감소하여 장력이 사라졌다. 여기에 칼슘을 투여하자 경축이 다시 생겨나 잘 유지되어 0.5 mM

에서 대조값의 77±2(%)를 나타내었고, 1, 2, 4, 8 mM로 농도가 증가함에 따라 장력의 크기도 89±1, 100, 115±4, 123±5(%)로 점차 커졌다.

2) 베라파밀이 자궁근의 수축성에 미치는 효과

(1) 베라파밀과 자발적 수축 :

Tyrod 용액에 베라파밀을 투여하자 자궁근의 자발

적 수축이 억제되었고 억제의 정도는 베라파민의 농도 증가에 따라 커져  $3 \times 10^{-4} \text{g/l}$ 에서는 수축이 완전히 사라졌다(Fig. 4A). 베라파민 농도  $10^{-6} \text{g/l}$ 에서부터 수축빈도와 수축폭선의 면적이 감소하여  $10^{-4} \text{g/l}$ 에서는 빈도가 불규칙해졌고, 장력의 크기는  $10^{-6} \text{g/l}$ 부터 감소하였다. 기록지 속도를 빨리하여 보면 최대 장력에 도달하는 속도와 수축의 지속기간 모두 베라파민 농도 증가에 따라 작아지고 짧아졌는데 지속기간 감소가 더욱 뚜렷하였다. 이러한 베라파민의 수축 억제 효과를 약물 투여전의 대조값에 대한 백분율로 나타내었다(Fig. 4B). 수축빈도는 용액 중의 베라파민 농도  $10^{-6} \text{g/l}$ 에서  $22 \pm 3(\%)$ ( $n=5$ ),  $10^{-5} \text{g/l}$ 에서  $46 \pm 3(\%)$ ,  $3 \times 10^{-5} \text{g/l}$ 에서  $64 \pm 4(\%)$ ,  $10^{-4} \text{g/l}$ 에서  $73 \pm 4(\%)$ ,  $3 \times 10^{-4} \text{g/l}$ 에서  $100(\%)$ 가 억제되었고 수축폭선의 면적은  $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$ ,  $3 \times 10^{-5}$ ,  $10^{-4}$ ,  $3 \times 10^{-4} \text{g/l}$ 에서  $8 \pm 3$ ,  $17 \pm 2$ ,  $32 \pm 3$ ,  $62 \pm 2$ ,  $100(\%)$ 가 억제되었는데 모든 농도에서 수축빈도의 감소가 더욱 뚜렷하였다. 한편 장력의 크기는  $10^{-6} \text{g/l}$ 에서는 감소되지 않았고  $10^{-5} \text{g/l}$ 에서  $11 \pm 2(\%)$ 가 감소되어  $3 \times 10^{-5}$ ,  $10^{-4}$ ,  $3 \times 10^{-4} \text{g/l}$ 로 농도가 증가함에 따라 그 억제의 정도는  $20 \pm 3$ ,  $53 \pm 4$ ,  $100(\%)$ 로 커졌다. 그리고 총장력도 베라파민 농도가

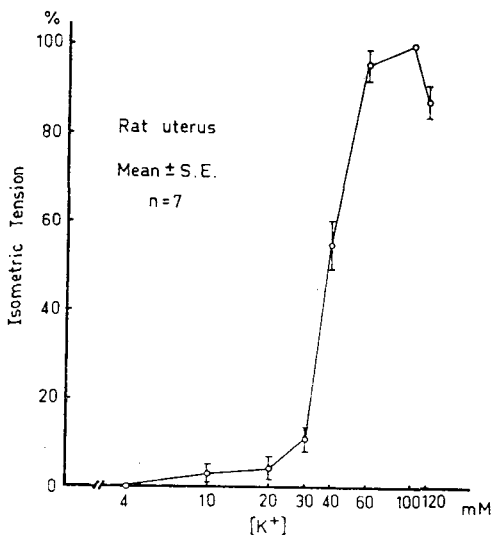


Fig. 2. Dose-dependent contractile responses to various  $\text{K}^+$  concentrations. The tension of  $\text{K}^+$ -contracture at each  $\text{K}^+$  level was expressed as % of the peak value at 100 mM of  $\text{K}^+$ . The amplitude of tension increased as  $\text{K}^+$  concentration increased in the experimental solution and reached submaximal value at the concentration of 60mM  $\text{K}^+$ .

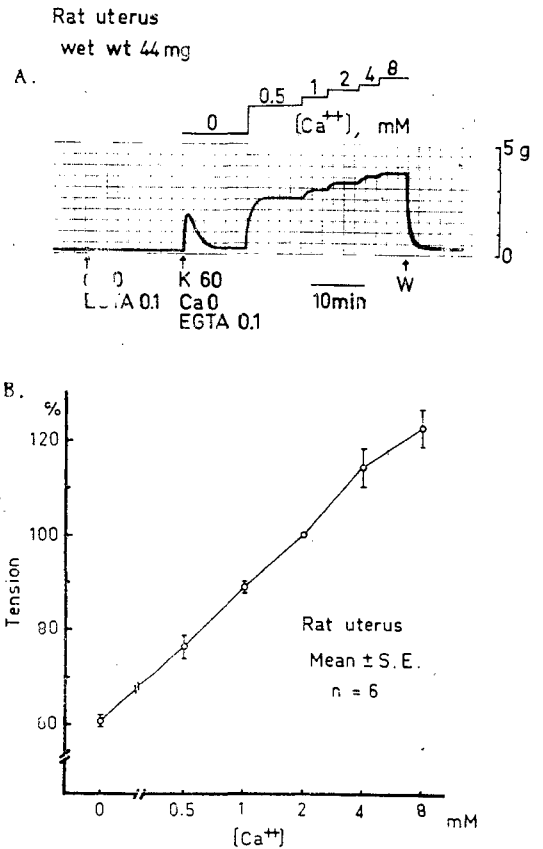


Fig. 3. Effect of  $\text{Ca}^{++}$  on 60mM  $\text{K}^+$ -contracture. In the contracture induced by 60mM  $\text{K}^+$ -Tyrode solution, the developed tension increased dose-dependently as the concentration of external  $\text{Ca}^{++}$  increased to 8 mM. In the absence of external  $\text{Ca}^{++}$ ,  $\text{K}^+$ -contracture appeared, but it was not sustained.

증가함에 따라 크게 감소하여 대조값에 대해  $10^{-6} \text{g/l}$ 에서  $72 \pm 4(\%)$ ,  $10^{-5} \text{g/l}$ 에서  $45 \pm 5(\%)$ ,  $3 \times 10^{-5} \text{g/l}$ 에서  $24 \pm 3(\%)$ ,  $10^{-4} \text{g/l}$ 에서  $10 \pm 4(\%)$ 의 값을 나타내었다.

베라파민  $3 \times 10^{-4} \text{g/l}$ 를 투여하여 자발적인 수축이 완전히 사라진 상태에서 세로외액의 칼슘 농도를 높여주자 수축이 다시 생겨났다(Fig. 5A). 칼슘 농도 4 mM 부터 자발적인 수축이 생겨 농도 증가에 따라 장력의 크기와 수축빈도가 증가하여 16 mM에서는 대조군과 거의 같은 크기의 장력을 나타내었으나 빈도는 50%정도밖에 회복하지 못하였다. 이때 다시 베라파민의 농도를 높여주자 수축의 억제가 생겨  $3 \times 10^{-3} \text{g/l}$ 에서는 수축이 완전히 사라졌다. 이러한 사실로 보아 베라파

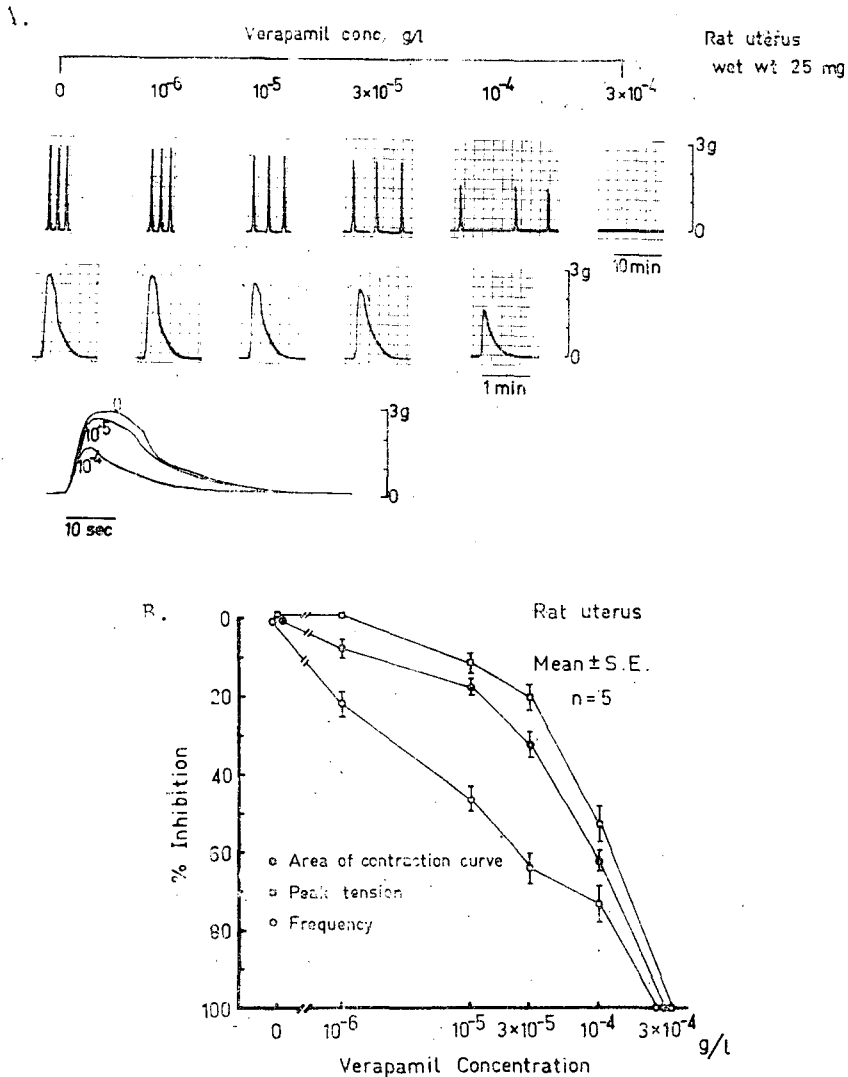


Fig. 4. Dose-dependent inhibitory effects of verapamil on spontaneous contractions. (A) Verapamil suppressed the spontaneous contraction in proportion to an increase of its concentration. (B) The degree of suppression was compared with control value attained in normal Tyrode solution. The frequency of contraction was decreased most remarkably.

밀의 억제 작용은 어느 정도 가역적이며 베라파밀과 칼슘 사이에는 상경적인(competitive) 작용이 있음을 생각할 수 있겠다.

(2) 베라파밀과 칼슘 경축 :

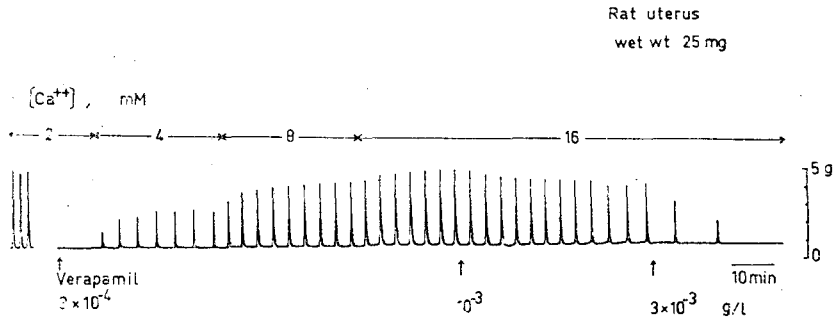
60mM K-Tyrode 용액으로 경축이 일어난 자궁근에 베라파밀을 투여하자 장력의 크기가 감소하였다(Fig. 6 A). 베라파밀 농도  $3 \times 10^{-6}$ g/l 부터 장력의 크기가 감소하였고 이러한 억제는 농도가 증가함에 따라 더욱 심해져  $3 \times 10^{-4}$ g/l에서는 경축이 완전히 사라졌다.

이러한 베라파밀 투여에 의한 칼슘 경축 억제 현상을 투여 전의 값에 대한 백분율로 나타내었다(Fig. 6B). 농도  $10^{-6}$ g/l에서는 장력 감소가 전혀 없었으나  $3 \times 10^{-6}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-4}$ g/l로 농도가 증가함에 따라  $23 \pm 2$ ,  $48 \pm 2$ ,  $86 \pm 2(\%)$ (n=5)의 수축력 감소가 생기며  $3 \times 10^{-4}$ g/l에서는 장력이 완전히 사라졌다.

베라파밀  $3 \times 10^{-4}$ g/l에 의해 경축이 완전히 사라진 상태에서 세포외액의 칼슘 농도를 높여주자 다시 경축이 생겼다(Fig. 5B). 칼슘 농도 증가에 따라 장력의

—황상익 : 칼슘, 베라파밀, 란타늄이 원위 자궁근의 자발적 수축과 칼륨 경축에 미치는 효과—

A.



B.

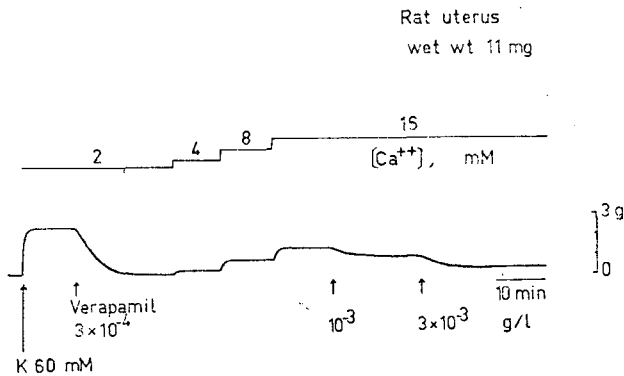


Fig. 5. Recovery of contractile activity from verapamil-induced suppression by extra  $Ca^{++}$ . (A) In the strip totally suppressed by verapamil, the spontaneous contraction re-appeared after addition of  $Ca^{++}$ . The amplitude of peak tension was completely recovered but the recovery of frequency was incomplete. (B) Contracture tension was developed again by extra  $Ca^{++}$  in the preparation totally inhibited by verapamil.

크기가 커졌으나 16 mM에서도 대조값의 50% 정도까지만 회복되었다. 여기에 다시 베라파밀의 농도를 높여줌에 따라 억제가 일어나  $3 \times 10^{-3} \text{g/l}$ 에서는 경축이 완전히 사라졌다. 이로 보아 베라파밀의 칼륨 경축 억제 작용도 어느 정도 가역적인 것으로 생각된다.

### 3) 란타늄이 자궁근의 수축성에 미치는 효과

#### (1) 란타늄과 자발적 수축 :

자궁근의 자발적 수축은 란타늄에 의해 억제되었고 그러한 억제는 란타늄의 농도 증가에 따라 점차 뚜렷해졌다(Fig. 7A). 란타늄 농도  $10^{-6} \text{M}$ 에서부터 수축빈도, 수축곡선의 면적, 장력의 크기가 모두 감소하였는데 낮은 농도에서는 수축빈도의 감소가, 높은 농도에서는 장력의 크기가 억제되는 것이 뚜렷하였다.  $10^{-4} \text{M}$ 에서는 규칙적인 수축은 사라지고 작고 불규칙한 세동(fibrillation)이 나타났으며  $10^{-3} \text{M}$ 에서는 수축이 완전히 사라졌다. 빠른 속도로 기록하여 보면 란타늄 농

도가 높아질수록 최대 장력에 도달하는 속도는 느려지고 수축의 지속기간은 오히려 길어지는데 세동이 나타나기 직전의 농도  $3 \times 10^{-6} \text{M}$ 에서 그것이 뚜렷해지는 것을 볼 수 있었다.

이와 같은 란타늄에 의한 수축 억제를 정상 대조값에 대한 백분율로 나타내었다(Fig. 7B). 수축빈도는 란타늄  $10^{-6} \text{M}$ 에서  $24 \pm 3(\%)$ (n=4),  $3 \times 10^{-6} \text{M}$ 에서  $44 \pm 4(\%)$  감소되어 낮은 농도에서부터 크게 억제되나  $10^{-5}$ ,  $3 \times 10^{-5} \text{M}$ 에서  $47 \pm 5$ ,  $49 \pm 4(\%)$  감소로 비슷한 값을 보이고  $10^{-4} \text{M}$ 에서는 세동이 나타나 수축빈도를 가늠할 수 없었다. 수축곡선의 면적은  $10^{-6}$ ,  $3 \times 10^{-6}$ ,  $10^{-5} \text{M}$ 에서 자기  $8 \pm 2$ ,  $14 \pm 2$ ,  $15 \pm 3(\%)$  감소로 낮은 농도에서의 억제는 비교적 작은 편이나  $3 \times 10^{-5} \text{M}$ 에서  $51 \pm 4(\%)$ 로 크게 감소하였다. 장력크기의 감소 양상도 수축곡선의 면적에서와 비슷하여  $10^{-6}$ ,  $3 \times 10^{-6}$ ,  $10^{-5} \text{M}$ 에서  $2 \pm 1$ ,  $10 \pm 2$ ,  $24 \pm 3(\%)$  감소로 별로 억제가 심하지 않다가  $3 \times 10^{-5} \text{M}$ 에서  $61 \pm 5(\%)$ 로 크게 감

A. Rat uterus  
wet wt 42 mg

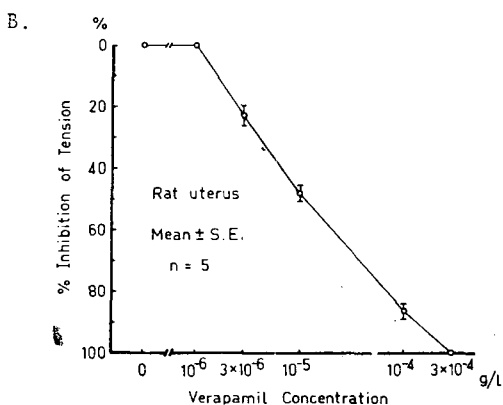
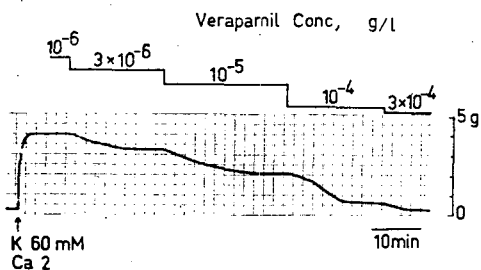


Fig. 6. Dose-dependent inhibitory effect of verapamil on 60 mM K-contracture. Contracture tension decreased in a dose-dependent manner after the treatment with verapamil.

소하는 모습을 나타내었다. 단위 시간의 총장력은 란타늄 농도 증가에 따라 뚜렷이 감소하여  $10^{-6}M$ 에서 대조값의  $70 \pm 4(\%)$ ,  $3 \times 10^{-6}$ ,  $10^{-5}$ ,  $3 \times 10^{-5}M$ 에서  $48 \pm 3$ ,  $45 \pm 4$ ,  $25 \pm 5(\%)$ 로 나타났다.

총장력을 대략 절반으로 떨어뜨리는 란타늄  $10^{-5}M$ 로 자발적인 수축을 억제한 상태에서 세포외액의 칼슘 농도를 높여주자 수축성이 회복되었다(Fig. 8A). 장력의 크기는 칼슘 농도 8mM에서 완전히, 수축빈도는 4mM에서부터 90% 가량으로 회복되었다. 수축곡선의 면적은 대조값보다 오히려 커져, 4mM에서 약 160%, 8mM에서 약 190%의 값을 보였으며 총장력도 4, 8mM에서 약 145%, 170%로 대조값보다 많이 증가한 값을 나타내었다.

한편 세동이 나타나는 농도인 란타늄  $10^{-4}M$ 로 규칙적인 수축이 억제된 상태에서는 칼슘 농도를 16mM까지 증가시켜도 빈도와 크기가 규칙적인, 대조군과 같은 수축으로 회복되지 못하였다(Fig. 8B).

이러한 사실들에서 란타늄의 억제 작용은 어느 농도까지는 가역적이지만 그 이상의 농도에서는 비가역적인 작용을 한다고 생각할 수 있겠다.

(2) 란타늄과 칼슘 경축 :

칼슘 경축을 일으킨 자궁근에 란타늄  $10^{-5}M$ 을 투여하여도 장력의 크기에는 변화가 없었고  $10^{-4}M$ 의 란타늄을 가하자 장력이 완전히 감소하여 대조값의 60% 정도로 떨어졌으며 이때 칼슘 농도를 16mM까지 증가시켜도 장력의 크기가 약간 증가할 뿐이었다(Fig. 9A-i). 경축이 일어난 상태에서 란타늄  $10^{-3}M$ 을 투여하자 장력

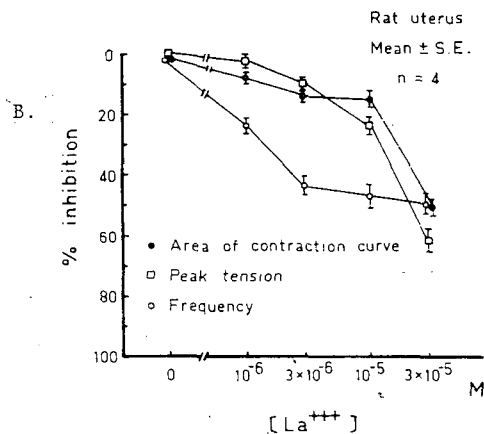
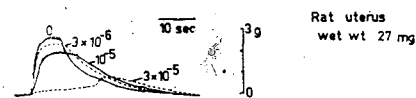
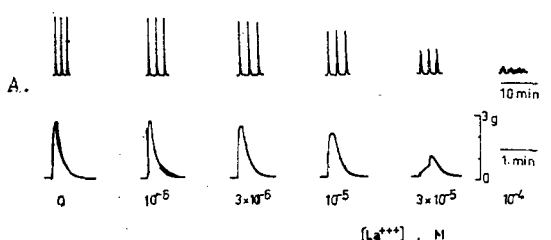


Fig. 7. Effects of  $La^{+++}$  on spontaneous contractions. (A) The spontaneous contraction was inhibited by  $La^{+++}$ . At the concentration of  $10^{-4}M$   $La^{+++}$ , fibrillation appeared instead of regular rhythmic contraction. (B) The degree of inhibition was manifested by comparing the experimental value with that of normal control.



—황상익 : 칼슘, 베라파밀, 란타늄이 흰쥐 자궁근의 자발적 수축과 칼륨 경축에 미치는 효과—

의 크기는 대조값의 40% 정도로 급격히 감소하다가 다시 75% 정도까지 서서히 회복하는 이상성 반응 (biphasic response)을 보였고 여기에  $10^{-3}g/l$ 의 베라파밀을 투여하여도 장력에는 변화가 없었으며 정상 Tyrode 용액으로 갈아주자 경축이 사라졌다(Fig. 9A-ii). Ca-free K-Tyrode 용액으로 장력이 발생하였다가 완전히 사라진 후  $10^{-3}M$ 의 란타늄을 가하자 서서히 장력이 발생하여 잘 유지하였고 여기에 칼슘 농도를 4mM로 높여도 장력에는 아무런 변화도 생기지 않았다(Fig. 9A-iii).

칼륨 경축이 베라파밀  $10^{-3}g/l$ 로 완전히 억제된 뒤  $10^{-3}M$ 의 란타늄을 투여하자 서서히 장력이 발생하여 잘 유지하였고 여기에 칼슘 농도를 8mM까지 증가시켜도 장력의 크기에 아무 변화가 없었다(Fig. 9B-i). 란타늄  $10^{-3}M$ 로 전처리한 후 같은 양의 란타늄이 포함된 Ca-free K-Tyrode 용액으로 갈아주자 장력이 서서히 커져 잘 유지하였다(Fig. 9B-ii). 란타늄  $10^{-3}M$ 과 베라파밀  $10^{-3}g/l$ 로 자발적 수축이 [완전히 억제된 상태에서 같은 양의 란타늄과 베라파밀이 포함된 K-Tyrode 용액으로 갈아주자 장력이 서서히 커져 잘 유지하였다(Fig. 9 B-iii).

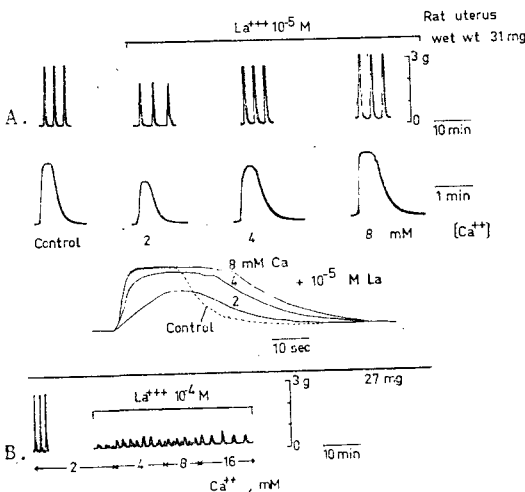


Fig. 8. Effects of  $Ca^{++}$  addition on  $La^{+++}$ -suppressed spontaneous activity. (A) In the strip inhibited by  $10^{-5}M$   $La^{+++}$ , contractility was completely recovered by extra  $Ca^{++}$ . (B) But in the preparation suppressed by  $10^{-4}M$   $La^{+++}$ , the regular spontaneous contraction was not developed even in the medium containing 16 mM of  $Ca^{++}$ .

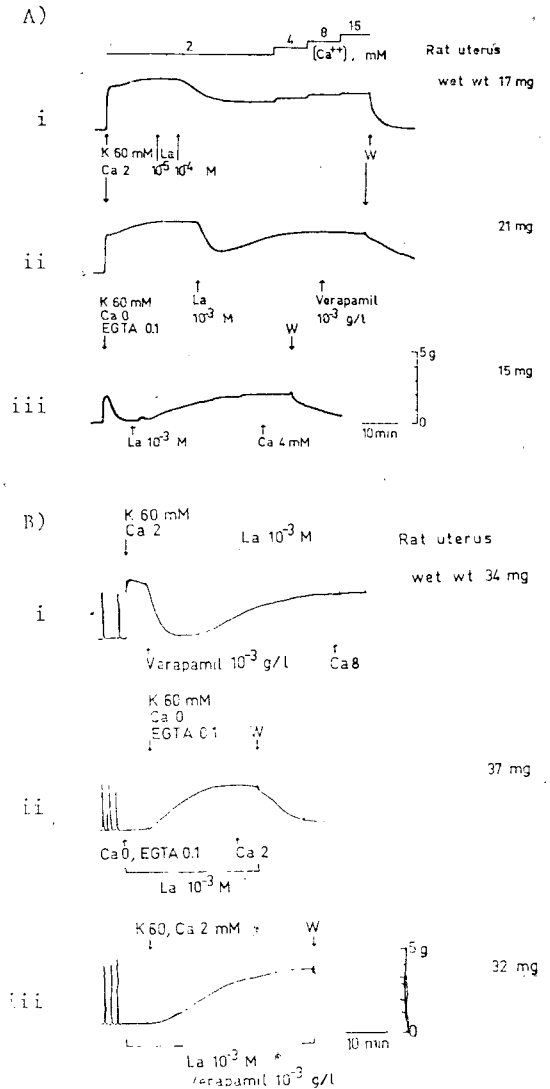


Fig. 9. Effects of  $La^{+++}$  on K-contracture. After the transient depression of tension by  $10^{-3}M$  of  $La^{+++}$ , the strip showed considerably large size of contracture, hardly influenced by external  $Ca^{++}$  or verapamil.

## 고 찰

자궁근은 호르몬 상태에 따라 수축성과 이온 및 약물에 대한 반응 정도가 달라지므로 그 상태를 일정하게 유지할 필요가 있어(Kao와 McCullough, 1975) 이 실험에서는 수축이 가장 활발한 발정기의 흰쥐만을 실험재료로 하였다.

원위 자궁근은 단단위성 평활근(unitary smooth muscle)으로 신경이나 약물의 작용 없이도 자발적으로 수축을 할 수 있고, 그 기전은 아직 잘 모르지만 흥분성이 주기적으로 변화하며 그것과 수축발생은 시간적으로 잘 일치한다(Osa 등, 1974). 즉 활동전압이 무리지어 나타나는(train of action potentials) 흥분기에 맞추어 수축이 일어나며 전압 변동이 거의 없는 휴식기(period of quiescence)에 근육이 이완되며 이런 시기가 교대로 나타난다. 또한 활동전압이 연속적으로 생기므로 가중이 일어나 경축(tetanus) 현상을 보이며, 장력의 크기는 무리 내에서의 활동전압 빈도(Marshall, 1968)에도 의존한다고 생각된다.

본 실험에서 세포외액의 칼슘을 제거하자 자발적 수축이 전혀 일어나지 않았는데(Fig. 1A), 이것으로 활동전압을 일으키는데 칼슘이 꼭 필요한 것인지의 여부는 알 수 없으나 자발적 수축이 일어나기 위해서는 세포외액의 칼슘이 필수적이라고 할 수 있겠다. 또한 세포외액의 칼슘 농도 증가에 따라 수축곡선의 면적, 장력의 크기, 수축의 지속시간 및 최대 장력에 이르는 속도가 모두 증가되었다(Fig. 1). 한편 수축빈도는 칼슘 농도 2mM 까지는 점차 늘어나지만 그 이상에서는 오히려 줄어들었다(Fig. 1). 미세전극으로 막전압을 관찰한 실험에 의하면 칼슘 농도 증가에 따라 활동전압 무리 사이의 간격은 길어지고 무리의 지속기간도 길어지나 무리 내에서의 활동전압의 빈도는 별 변화가 없다는 보고(Csapo, 1962)가 있는데 본 실험과 잘 부합되는 사실이다. 반면 칼슘 농도의 증가로 무리의 지속기간은 오히려 짧아진다는 보고도(Osa와 Taga, 1973) 있다. 휴식기에 높은 농도의 칼슘이 흥분성을 떨어뜨리는 작용(stabilizing effect)(Prosser, 1974)에 의해 수축빈도가 떨어진다고 생각할 수 있으며 어느 농도 범위 내에서는 칼슘이 흥분 발생을 촉진시킨다고 추측할 수도 있겠으나 자세한 내용은 아직 알 수가 없다.

이렇듯 칼슘은 세포막 흥분성에 작용하므로(Marshall, 1968; Kuriyama와 Suzuki, 1976) 이런 상태에서 수축성의 변화를 분석하기에는 어려운 점이 많아 이번에는 칼륨 경축으로 저분극 상태를 만들어 흥분성 변화의 영향을 배제한 채 세포외액의 칼슘 농도 변화와 칼슘 억제제의 효과를 관찰하였다.

세포외액의 칼륨 농도를 증가시키기에 따라 경축의 크기는 커져 100mM에서 최대값에 이르렀는데(Fig. 2) 거의 최대 크기의 경축을 일으키는 농도인 60mM의 칼륨으로 경축을 일으켜 실험을 하였다. 원위 자궁근에서 생긴 칼륨 경축은 토끼 신동맥, 기니아피그 결장

뉴(Kim 등, 1979)에서와는 달리 위상성과 지속성 성분으로 구분할 수는 없었다(Fig. 5B, 6A, 9). 일반적으로 자발적인 흥분을 하는 조직은 큰 위상성 수축과 작은 지속성 수축을 나타내는 것으로(Casteels 등, 1977) 알려져 있으나 이 실험의 경우는 그것과 상이하다.

세포외액의 칼륨 농도가 증가함에 따라 저분극이 강화되면(Hodgson과 Daniel, 1973) 세포막의 칼슘 투과성 및 세포내 저장고로부터의 칼슘 유리가 증가되므로(Daniel과 Janis, 1975) 세포질내의 칼슘 농도가 증가하게 되어 수축력이 점차 커지는 것으로 해석할 수 있겠다. 이렇게 칼슘 투과성이 커진 상태에서 외부 칼슘 농도가 증가함에 따라 칼슘 유입량도 많아져 장력의 크기가 커진다(Fig. 3)고 생각할 수 있겠다. 또한 외액에 칼슘이 없는 경우(Ca-free K-Tyrode 용액)에도 정상 칼슘 농도(K-Tyrode 용액)에서 발생하는 장력의 60% 정도까지 생기는 것으로 보아 세포내 저장고로부터 유리되는 것이 적어도 경축 발생의 초기 단계에는 중요한 구실을 하는 것으로 생각할 수 있겠고 그것이 지속적으로 유지되지 못하는 것으로부터(Fig. 3A) 경축의 지속을 위해서는 외액의 칼슘이 필수적이며 경축의 크기는 대체로 칼슘의 유입량에 의존한다고 생각할 수 있겠다.

칼슘 농도 변화에 따른 장력 크기의 변화 정도는 자발적 수축(Fig. 1)과 칼륨 경축(Fig. 3)에서 거의 같은 값을 보이는데, 이 결과와 막전압 측정 실험들을 묶어 생각하면 이 경우 자발적 수축의 장력 크기는 세포외액으로부터의 칼슘 유입 정도에 크게 의존한다고 생각할 수 있겠으나 칼슘이 활동전압에 미치는 영향을 확실히 밝히기 전까지는 단정짓기 어렵겠다.

칼슘이 자궁근 수축성에 미치는 효과를 명확히 하기 위하여 칼슘 억제제인 베라파밀과 란타눔을 투여하고 그 작용을 관찰하였다.

베라파밀은 포유류 심장근(Kohlhardt 등, 1972) 및 평활근(Fleckenstein과 Grün, 1969)에서 세포막을 통한 칼슘의 유입을 막으며 이밖에 다른 기전으로도(Triggle와 Swamy, 1980) 세포내 칼슘 농도를 떨어뜨린다고 알려져 있다. 이러한 베라파밀이 자궁근의 자발적 수축에도 억제적인 효과를 나타내어 농도 증가에 따라 수축성이 감소하여  $3 \times 10^{-6}g/l$ 에서는 수축이 완전히 사라졌다(Fig. 4). 즉 수축빈도, 수축곡선의 면적, 장력의 크기, 장력 발생 속도, 수축의 지속시간 등이 모두 감소하였는데 특히 수축빈도와 수축의 지속시간이 뚜렷이 감소하였다. 그리고 베라파밀 투여로 수축이 완전히 사라진 상태에서 칼슘 농도를 높여줌에 따

라 자발적인 수축이 다시 생겨났는데 이 경우 장력의 크기는 완전히 회복되나 수축빈도에서는 그렇지 못하였다(Fig. 5A). 이러한 결과로 보아 베라파밀은 자궁근에서 흥분의 전도에 더욱 억제적인 작용을 하며, 또 이 약물의 칼슘 억제 작용은 상경적 억제(competitive inhibition)의 성질을 갖는 것으로 생각된다.

베라파밀은 칼륨 경축에 대해서도 억제적인 작용을 나타내어 농도증가에 따라 장력이 감소하였으며(Fig. 6), 이때 칼슘 농도 증가에 따라 경축의 크기가 다시 커지는 것으로(Fig. 5B) 보아 이 경우에도 상경적인 억제를 하는 것으로 생각된다.

란타늄이온은 칼슘이온과 크기가 비슷할 뿐만 아니라(수화된 원자반경이 각각  $3.1 \text{ \AA}$ ,  $2.8 \text{ \AA}$  이고 수화되지 않은 반경은 각각  $1.01 \text{ \AA}$ ,  $0.99 \text{ \AA}$ ) 더 높은 원자를 지니 칼슘 결합 부위에 강하게 결합하리라는 가설(Lettvin 등, 1964)이 나온 뒤 여러 사람에 의해 란타늄은 세포막을 통한 칼슘의 유입 및 유출을 모두 막아 세포내 칼슘의 농도 및 분포를 조절한다고 주장되었으나(van Breemen 등, 1972; Weiss, 1974; Daniel 과 Janis, 1975; Magaribuchi 등, 1977) 자궁근에서의 태도는 뚜렷이 증명된 바가 없다. 란타늄은 칼슘 전류의 중요 공급원이라고 생각되는 세포 표면의 기저층(basement coat)에 농축되며(Nayler 와 Seabra-Gomes, 1975) 세포막을 통한 세포내로의 유입은 없다는 전자현미경적 소견(Langer, 1976)이 있는 반면 고농도의 칼륨으로 저분극화된 세포내로의 이동이 가능하여 세포막을 통한 칼슘 이동 조절 이외에 다른 기전으로 세포내 칼슘 분포를 조절한다는 주장(Magaribuchi 등, 1977; van Breemen 등, 1977)도 있다. 즉 란타늄은 저분극시 직접 세포막을 통과하여 세포내 저장고로의 칼슘 축적을 억제하여 세포질내 칼슘 농도를 증가시키거나(Magaribuchi 등, 1977) 외액의 칼슘 존재에 무관한 과정(예를 들면 근육 이완)을 차단한다는 설(Twarog, 1977) 등이다.

자발적 수축을 하는 자궁근에 란타늄을 투여하자 수축성이 전반적으로 감소하였는데 장력 발생 속도가 느려지고 반면 수축의 지속기간은 길어지는 모습을 나타내었다(Fig. 7). 베라파밀에서와는 달리 란타늄  $10^{-4} \text{ M}$ 에서는 세동이 나타났는데 이 경우 흥분이 여기저기에서 발생은 하나 전도되지 못하므로 이런 현상이 생기는 것으로 해석된다(Fig. 7). 비교적 낮은 농도인 란타늄  $10^{-5} \text{ M}$ 로 자발적인 수축을 억제한 상태에서는 외액의 칼슘 농도를 높여줌에 따라 수축성이 회복되었으나(Fig. 8A) 세동이 나타나는  $10^{-4} \text{ M}$ 에서는 규칙적인

수축으로 회복하지 못하였다(Fig. 8B). 이러한 사실들에서 란타늄의 억제 작용은 어느 농도까지는 상경적이지만 그 이상의 농도에서는 비상경적인 작용을 한다고 생각할 수 있겠다.

칼륨 경축 상태에  $10^{-4} \text{ M}$ 의 란타늄을 투여하자 장력이 완전히 감소하였고 여기에 칼슘 농도를 많이 증가시켜도 장력의 크기가 약간 증가할 뿐이었다(Fig. 9A-i). 경축을 일으킨 자궁근에  $10^{-3} \text{ M}$ 의 란타늄을 투여하자 수축력이 급격히 감소하다가 다시 서서히 회복하는 이상성 반응을 보였으며 여기에 베라파밀을 투여하거나 칼슘 농도를 증가시켜도 별 변화가 없었다(Fig. 9A). 흰쥐 정관(Swamy 등, 1976)과 기니아피그 결장뉴(Magaribuchi 등, 1977), 토끼 신동맥(Hong, 미 발표) 등에서는 란타늄 투여로 이러한 이상성 반응을 보이지 않고  $10^{-3} \text{ M}$ 이나 그 이하의 농도에서 경축이 완전히 억제되었다. 또한 칼륨 경축이 베라파밀에 의해 완전히 억제된 상태에서 란타늄  $10^{-3} \text{ M}$ 을 투여하자 유지가 잘되는 경축이 발생하였고 이때 외액의 칼슘 농도 변화로는 아무런 영향이 없었다(Fig. 9B). 란타늄은 칼슘이나 베라파밀의 존재와 관계없이, 서서히 생기고 지속이 잘 되는 칼륨 경축을 일으킨다(Fig. 9B). 즉 란타늄( $10^{-3} \text{ M}$ )은 경축이 발생한 상태에서는 일시적으로 수축력 억제 효과도 나타내지만 결국 상당히 크고 지속이 잘 되는 수축을 생기게 하며 여기에는 외액의 칼슘이나 베라파밀이 거의 영향을 미치지 못한다고 요약할 수 있겠다. 란타늄은 외액 칼슘의 존재와 상관없이 상당히 큰 칼륨 경축을 유발할 수 있고 또 베라파밀에 의해 경축이 없어진 경우에도 다시 회복시키는 것으로 보아 세포막을 통한 칼슘 이동 이외에 세포내 칼슘의 유리 및 회수 기전에도 작용할 것으로 추측할 수 있겠으나 자발적 수축에서도 그러하리라는 증거는 이 실험에서 발견할 수 없었다.

## 결 론

흰쥐의 적출 자궁근 절편을 실험재료로 하여 자발적 수축에서와  $60 \text{ mM}$  칼륨으로 저분극을 일으켜 막전압에 대한 영향은 배제한 상태에서의 칼슘 및 그 억제제인 베라파밀과 란타늄의 효과를 관찰 비교하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1) 자발적으로 수축하는 자궁근에서 칼슘 농도 증가에 따라 장력의 크기와 수축폭선의 면적이 커졌고, 수축빈도는  $2 \text{ mM}$ 까지는 증가하였으나 그 이상의 농도에서는 오히려 감소하였다. 용액 중에 칼슘이 없는 경우

에는 수축이 전혀 일어나지 않았다.

60 mM 칼륨으로 경축을 유발한 자궁근에서 세포외액의 칼슘 농도가 증가함에 따라 장력의 크기가 증가하였고 세포외액에 칼슘이 없는 경우에도 경축이 발생하였으나 유지하지는 못하였다.

2) 자발적으로 수축하는 자궁근에서 수축빈도와 수축곡선의 면적은 베라파밀 농도  $10^{-6}$ g/l 부터, 장력의 크기는  $10^{-8}$ g/l 부터 감소하여  $3 \times 10^{-4}$ g/l 에서는 수축이 완전히 사라졌다. 여기에 칼슘 농도를 높임에 따라 수축이 회복되어 8mM 에서 대조군과 비슷한 크기의 장력을 발생하였으나 수축빈도는 충분히 회복하지 못하였다.

경축의 크기는 베라파밀  $3 \times 10^{-6}$ g/l 부터 감소하여  $3 \times 10^{-4}$ g/l 에서는 완전히 사라졌고 여기에 칼슘을 가하자 다시 장력이 발생하여 1fM 에서 최대값에 이르렀으나 완전히 회복하지는 못하였다.

3) 자발적으로 수축하는 자궁근에서 탄타늄 농도  $10^{-6}$ M 에서부터 수축빈도, 수축곡선의 면적, 장력의 크기가 모두 감소하여  $10^{-4}$ M 에서는 규칙적인 수축은 사라지고 작고 불규칙한 세동만이 남았다. 탄타늄  $10^{-8}$ M 로 수축이 억제된 상태에서는 칼슘 농도 증가로 수축성이 완전히 회복되었으나  $10^{-4}$ M 에서는 그러하지 못하였다.

칼륨 경축에서는 탄타늄  $10^{-4}$ M 에서 장력이 감소하고 이때의 감소는 칼슘 농도 증가로 약간 회복되었으나  $10^{-8}$ M 에서는 일시적으로 수축력 억제 효과도 나타내지만 결국 상당히 큰 경축을 생기게 하며 여기에는 세포외액의 칼슘이나 베라파밀이 영향을 미치지 못하였다.

이상의 결과로 보아 흰쥐 자궁근에서는, 칼슘과 그 억제제 사이에 어느 정도 상경적인 작용이 있으며, 칼슘은 흥분-수축 연결 물질로서의 작용 이외에 흥분 전도에도 중요한 역할을 하고, 또 탄타늄은 저분극 상태에서 세포막을 통한 칼슘 이동에뿐만 아니라 세포내 칼슘의 유리 및 회수 기전에도 작용할 것으로 생각된다.

### 참 고 문 헌

Abe, Y.: *Effects of changing the ionic environment on passive and active membrane properties of pregnant rat uterus.* *J. Physiol.*, 214:173-190, 1971.

Bengtsson, B.: *The role of intramural noradrenaline in the potassium induced contracture of*

*non-estrogenized smooth muscle.* *Acta physiol. scand.*, 101:112-121, 1977.

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.

Bülbring, E. and Kuriyama, H.: *Effects of changes in the external sodium and calcium concentrations on spontaneous electrical activity in smooth muscle of guinea pig taenia coli.* *J. Physiol.*, 166:29-58, 1963.

Bülbring, E. and Tomita, T.: *Effects of Ca removal on the smooth muscle of the guinea pig taenia coli.* *J. Physiol.*, 210:217-232, 1970.

Burnstock, G., Holman, M.E. and Prosser, C.L.: *Electrophysiology of smooth muscle.* *Physiol. Rev.*, 43:482-527, 1963.

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

Csapp, A.: *Smooth muscle as a contractile unit.* *Physiol. Rev.*, 42(suppl. 5):7-33, 1962.

Daniel, E.E. and Janis, R.A.: *Calcium regulation in the uterus.* *Pharmacol. Therap. B.*, 1:695-729, 1975.

Edman, K.A.P. and Schild, H.O.: *The need for calcium in the contractile responses induced by acetylcholine and potassium in the rat uterus.* *J. Physiol.*, 161:424-441, 1962.

Fleckenstein, A.: *Specific pharmacology of calcium in myocardium, cardiac pacemakers, and vascular smooth muscle.* *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 17:149-166, 1977.

Fleckenstein, A. and Grün, G.: *Reversible blockade of excitation-contraction coupling in rat's uterine smooth muscle by means of organic calcium antagonists.* *Pflügers Arch.*, 307:R. 26, 1969.

Hodgson, B.J. and Daniel, E.E.: *Studies concerning in the source of calcium for contraction of rat myometrium.* *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, 51:914-932, 1973.

- Hong, Y.W.: *Different mechanisms for the activation of vascular smooth muscle by norepinephrine and depolarization, unpublished.*
- Kao, C.Y. and McCullough, J.R.: *Ionic currents in the uterine smooth muscle. J. Physiol., 246:1-36, 1975.*
- Kim, K.W., Hwang, S.I. and Nam, K.Y.: *Different mechanisms of K-induced contracture in isolated vascular and intestinal smooth muscles. Kor. J. Physiol., 13:41-50, 1979.*
- 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., 335:309-322, 1972.*
- Kuriyama, H.: *Ionic basis of smooth muscle action potentials. In Handbook of Physiology, Section 6, Vol. 4, 1767-1791, ed. Code, C.F. Washington D.C.: American Physiological Society. 1968.*
- 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, 25-35, ed. Casteels, R. et al. Elsevier: North-Holland Biomedical Press. 1977.*
- Kuriyama, H. and Suzuki, H.: *Effects of prostaglandin E<sub>2</sub> and oxytocin on the electrical activity of hormone-treated and pregnant rat myometria. J. Physiol., 260:335-349, 1976.*
- Langer, G.A.: *Events at the cardiac sarcolemma; localization and movement of contractile-dependent calcium. Fed. Proc., 35:1274-1278, 1976.*
- Lettvin, J.Y., Pickard, W.F., McCulloch, W.S. and Pitts, W.: *A theory of passive ion flux through axon membranes. Nature(Lond.), 202:1338-1339, 1964.*
- Magaribuchi, T., Nakajima, H. and Kiyomoto, A.: *Effects of diltiazem and lanthanum ion on the potassium contracture of isolated guinea pig smooth muscle. Jap. J. Pharmacol., 27:333-339, 1977.*
- Marshall, J.M.: *Relation between ionic environment and action of drugs on myometrium. Fed. Proc., 27:115-119, 1968.*
- Nayler, W.G. and Seabra-Gomes, R.: *Excitation-contraction coupling in cardiac muscle. Prog. Cardiovasc. Dis., 18:75-88, 1975.*
- Osa, T.: *The effects of sodium, calcium and manganese on the electrical and mechanical activities of the myometrial smooth muscle of pregnant mouse. Jap. J. Physiol., 23:113-133, 1973.*
- Osa, T.: *Effects of magnesium ion and temperature on the phasic and tonic contractions of the potassium contracture in the pregnant rat myometrium. Jap. J. Physiol., 25:677-691, 1975.*
- Osa, T., Suzuki, H., Katase, T. and Kuriyama, H.: *Excitatory action of synthetic prostaglandin E<sub>2</sub> on the electrical activity of pregnant mouse myometrium in relation to temperature changes and external sodium and calcium concentrations. Jap. J. Physiol., 24:233-248, 1974.*
- Osa, T. and Taga, F.: *Effects of external Na and Ca on the mouse myometrium in relation to the effects of oxytocin and carbachol. Jap. J. Physiol., 23:97-112, 1973.*
- Popescu, L.M.: *Cytochemical study of the intracellular calcium distribution in smooth muscle. In Excitation-Contraction Coupling in Smooth Muscle, 13-23, ed. Casteels, R. et al. Elsevier: North-Holland Biomedical Press. 1977.*
- Prosser, C.L.: *Smooth muscle. Ann. Rev. Physiol., 36:503-533, 1974.*
- Sandow, A.: *Excitation-contraction coupling in skeletal muscle. Pharmacol. Rev., 17:265-320, 1965.*
- Swamy, V.C., Triggle, C.R. and Triggle, D.J.: *The effects of lanthanum and thulium on the mechanical responses of rat vas deferens. J. Physiol., 254:55-62, 1976.*
- Triggle, D.J. and Swamy, V.C.: *Pharmacology of agents that affect calcium. Chest, 78(suppl.): 174-179, 1980.*
- Triggle, C.R., Swamy, V.C. and Triggle, D.J.: *Calcium antagonists and contractile responses in rat vas deferens and guinea pig ileal smooth*

- muscle. *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, 57:804-818, 1979.
- Twarog, B.M.: *Dissociation of calcium-dependent reactions at different sites; lanthanum block of contraction and relaxation in molluscan smooth muscle. In Excitation-Contraction Coupling in Smooth Muscle*, 261-271, ed. Casteels, R. et al. Elsevier: North-Holland Biomedical Press. 1977.
- van Breemen, C.: *Blockade of membrane calcium fluxes by lanthanum in relation to vascular smooth muscle contractility. Arch. Intern. Physiol. Biochim.*, 77:710-716, 1969.
- van Breemen, C., Farinas, B.R., Gerba, P. and McNaughton, E.D.: *Excitation-contraction coupling in rabbit aorta studied by the lanthanum method for measuring cellular calcium influx. Circ. Res.*, 30:44-54, 1972.
- van Breemen, C., Hwang, O. and Siegel, B.: *The lanthanum method. In Excitation-Contraction Coupling in Smooth Muscle*, 243-252, ed. Casteels, R. et al. Elsevier: North-Holland Biomedical Press. 1977.
- Weiss, G.B.: *Cellular pharmacology of lanthanum. Ann. Rev. Pharmacol.*, 14:343-354, 1974.
- Yamashita, K., Takagi, T. and Hotta, K.: *Mobilization of cellular calcium and contraction-relaxation of vascular smooth muscle. Jap. J. Physiol.*, 27:551-564, 1977.