

고양이 회장 평활근의 수축력에 미치는 Vanadate 와 Ouabain 의 작용

부산대학교 의과대학 생리학교실

이재양 · 정진섭 · 김용근 · 이상호

= Abstract =

Effect of Vanadate and Ouabain on the Contractile Response of Cat Ileal Muscle

Jae-Yang Lee, Jin-Sup Jung, Yong-Keun Kim and Sang-Ho Lee

Department of Physiology, College of Medicine, Busan National University

Vanadate is a potent inhibitor of Na-K-ATPase. Ouabain, the another specific inhibitor of Na-K-ATPase, induces the contraction in cardiac muscle and smooth muscle. But, some investigators observed the discrepancies between vanadate and ouabain-induced contraction in cardiac muscle. The difference of vanadate and ouabain-induced contraction was investigated in the cat ileal smooth muscle. The following results were obtained.

- 1) Ouabain-induced contraction was biphasic, but vanadate-induced contraction had one peak.
- 2) Atropine inhibited ouabain-induced contraction, but did not inhibit vanadate-induced contraction.
- 3) Changes in external Ca^{++} concentration or Ca^{++} antagonists had a greater influence on the contraction induced by vanadate than by ouabain.
- 4) Removal of Na^+ from incubation medium and high K^+ abolished ouabain-induced contraction, but had no effect on vanadate-induced contraction.
- 5) Vanadate-induced contraction was potentiated in the presence of ouabain.
- 6) After 3 hrs incubation with vanadate, there was no change in intracellular Na^+ concentrations in contrast with ouabain.

These results suggest that vanadate contracts ileal smooth muscle through the mechanism different from ouabain, and this is independent of the inhibition of Na-K-ATPase activity.

서 론

Vanadate 는 Na-K-ATPase 를 강력하게 억제하는 것으로 밝혀졌으며^{4,9)} 정상적인 동물조직에서 소량이 존재할 뿐만 아니라 micromole 농도 범위에서는 다른 ATPase 효소들에 영향없이 Na-K-ATPase 를 억제하기 때문에 생체내에서 Na-K-ATPase 의 specific regulator 로써 추측되고 있다⁹⁾. Na-K-ATPase 를 specific

하게 억제시키는 물질로 알려진 ouabain^{40,43)}이 혈관^{8, 22, 27, 29, 30)} 및 장관평활근^{8, 10, 11, 18, 19)}에서 수축을 유발시키기 때문에 vanadate 도 ouabain 과 같이 Na-K-ATPase 를 억제함으로써 수축을 유발시키는 지에 대해서 알 수가 없다. 심근에서는 Na-K-ATPase 의 억제가 positive inotropic 효과와 관련을 가지고 있는 것으로 보고되고 있으며²⁾ Myers 와 Boerth²⁸⁾는 vanadate 가 심근에서 positive inotropic 효과를 나타내는데 이러한 효과가 Na-K-ATPase 의 억제와 관련을 가지고 있

Table 1. Composition of bathing media(mM)

Medium	NaCl	Sucrose	KCl	CaCl ₂	MgCl ₂	Glucose	Tris-HCl
Normal Tyrode	136	0	2.7	2.5	1.0	5.5	24.0
Na-free Sucrose	0	240	2.7	2.5	1.0	5.5	24.0
100 K	38.7	0	100	2.5	1.0	5.5	24.0
Ca-free	136	0	2.7	0	1.0	5.5	24.0
K-free	136	0	0	2.5	1.0	5.5	24.0

는 것 같다고 보고함으로써 심근에서 positive inotropic 효과에 대한 vanadate와 ouabain의 작용기전이 같음을 암시하였다.

그러나 혈관평활근³⁾에서는 vanadate의 수축작용이 Na-pump 억제없이 나타나는 것으로 추측되고 있으며, 심근세포에서도 심실근^{3,7,14,16,17,37,44)}에서는 수축을 유발하지만 심방^{7,16)}에서는 negative inotropic 효과를 나타냄으로서 ouabain과는 다른 것으로 보고되고 있다.

특히 Grupp 등¹⁶⁾은 ouabain은 모든 동물에서 심실이나 심방에서 positive inotropic 효과를 나타내지만 vanadate에 대한 효과는 실험동물에 따라 차이를 나타내어 토끼와 쥐에서는 심방에서 positive inotropic 작용을 나타내는데 반해 guinea-pig와 고양이의 심방에서는 negative inotropic 효과를 나타낸다고 하였다. 장관평활근에서도 Hudgins와 Bond¹⁹⁾와 Ueda 등⁴⁷⁾은 vanadate의 수축작용이 Na-pump의 억제와는 관계가 없다고 하였다.

그러나 vanadate와 ouabain이 장관평활근에서 그 작용이 비교 관찰된 바가 없어 저자는 고양이의 회장 평활근을 이용하여 vanadate와 ouabain의 작용에 어떤 차이가 있는지를 관찰하기 위하여 본 실험을 실시하였다.

실 험 방 법

1) 실험재료

체중 2~3 kg의 고양이를 두부를 타격하여 희생시킨 후 회장 말단부분을 적출하여 Tyrode 용액내 담그고 너비 0.5 cm, 길이 2~2.5 cm의 중주근 절편을 만들어 사용하였다.

2) 용액의 조성

실험에 사용된 용액의 조성은 Table 1에서 보인 바와 같으며 37°C에서 pH를 7.4로 유지하였고 100%

O₂를 포화시켰다. Na⁺ 대신 Li⁺ 및 choline을 대체할 때는 NaCl 대신 lithium chloride 및 choline chloride를 같은 농도로 사용하였다.

3) 수축력 측정

평활근 절편을 실험용기(20 ml)에 옮겨 한끝은 근육 고정기에 연결하고 다른 끝을 근수축력 변환기(Narco, F-60)에 연결하여 기록기(MKIV, Narco Biosystem)로 등장성 수축(isometric contraction)을 기록할 수 있도록 한 다음, 37°C에서 100% O₂를 공급하면서 최초 장력으로 1.5 g 부하시켜 30분동안 평형시킨 후 실험을 시작하였다.

4) 세포내 Na⁺ 측정

세포내 Na⁺농도는 Lithium 방법¹⁹⁾으로 측정하였다. 즉 incubation 한 후 조직을 1°C, pH 7.2에서 lithium 용액(LiCl 147.4 mM, glucose 5.5 mM, Tris-HCl 11.9 mM)에 40분동안 노출시켜 세포외액의 Na를 제거한 후 61% HNO₃와 60% HClO₄이 각각 같은 양으로 혼합된 용액 0.5 ml 속에 조직을 넣고 180°C로 가열하여 유기물을 분해하였다. 마지막 건조된 재를 0.01 N HCl에 녹인 후 flame photometer(Beckman Model 652210)로 Na⁺의 농도를 측정하였다.

실 험 성 적

1) 고양이 회장 평활근의 수축력에 미치는 vanadate와 ouabain의 효과

회장평활근에 ouabain을 작용시켰을 때 초기에 빠른 수축이 나타났다가 약간의 이완이 일어난 후 다시 수축이 일어났으며 초기에 나타난 수축은 항상 두번째 나타나는 수축보다 크기가 작았다.

그러나 vanadate에 의해서는 단일 수축만이 나타났다(Fig. 1). Ouabain이나 vanadate에 의해 나타나는 수축반응은 최대수축이 유발된 후 서서히 감소되었

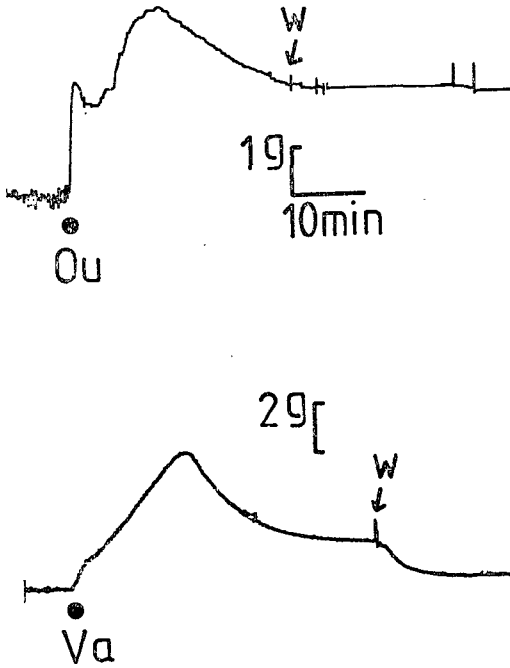


Fig. 1. Contractile response of cat ileal muscle to 10^{-4} M ouabain(Ou) and 10^{-3} M vanadate (Va). w: wash

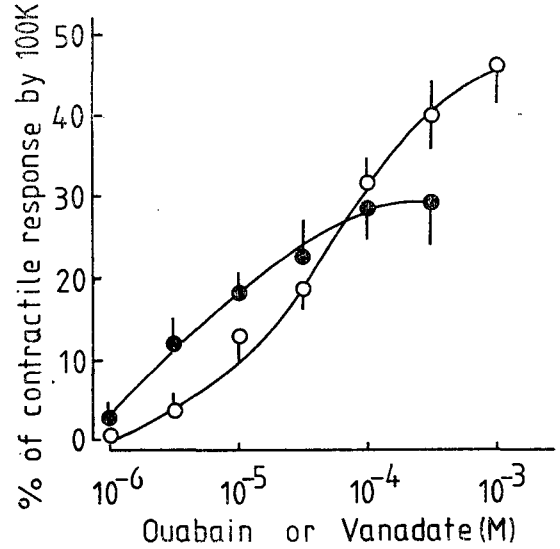


Fig. 2. Dose-dependency of the contraction induced by 10^{-3} M vanadate(O) and 10^{-4} M ouabain(●). These values represent mean \pm SE for 4 experiments.

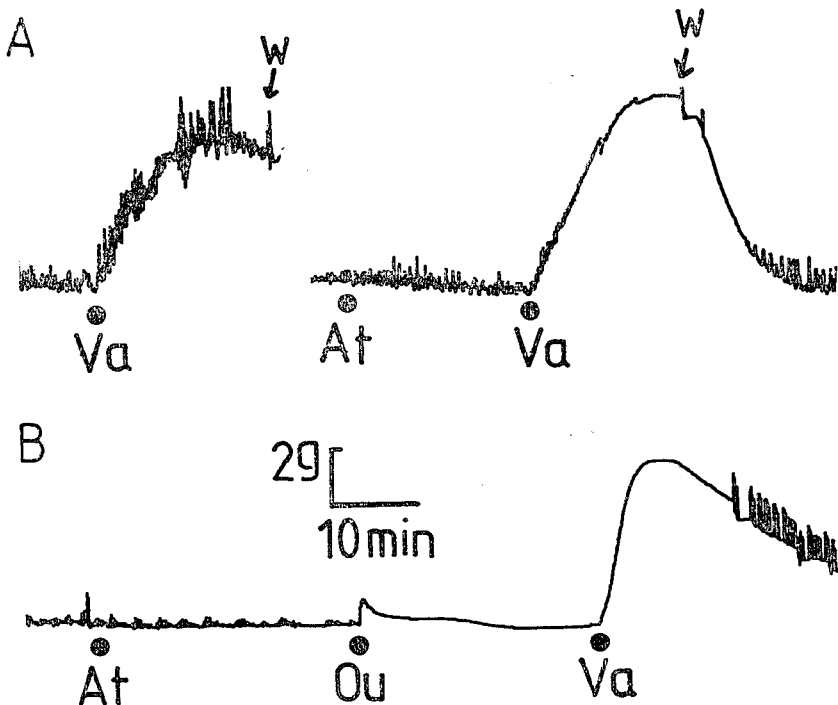


Fig. 3. The effect of 2×10^{-6} M atropine on the contraction induced by 10^{-3} M vanadate(A) and 10^{-4} M ouabain(B).

Table 2. Effects of Ca^{2+} antagonists and atropine on contractile response by ouabain and vanadate

Drugs	Ouabain ($10^{-4}M$)	% of control	Vanadate ($10^{-3}M$)	% of control	100 K (phasic)	% of control
	force(g)		force(g)			
Control(no drugs)	2.37 ± 0.32	100	4.85 ± 0.98	100	8.25 ± 1.36	100
Atropine $10^{-6}M$	0.45 ± 0.03	18.99	4.69 ± 1.24	96.70	6.75 ± 0.88	81.82
Verapamil $10^{-6}M$	0.11 ± 0.01	4.64	0.21 ± 0.02	4.33	0.79 ± 0.02	9.58
" 5×10^{-7}	0.32 ± 0.02	13.50	4.64 ± 1.06	95.67	3.43 ± 0.87	41.58
Papaverine $10^{-4}M$	0	—	0.19 ± 0.02	3.92	—	—
" 5×10^{-5}	0.22 ± 0.02	9.28	1.65 ± 0.12	34.02	0.85 ± 0.02	10.30

All values indicate mean \pm SE of tension(g) from ten strips.

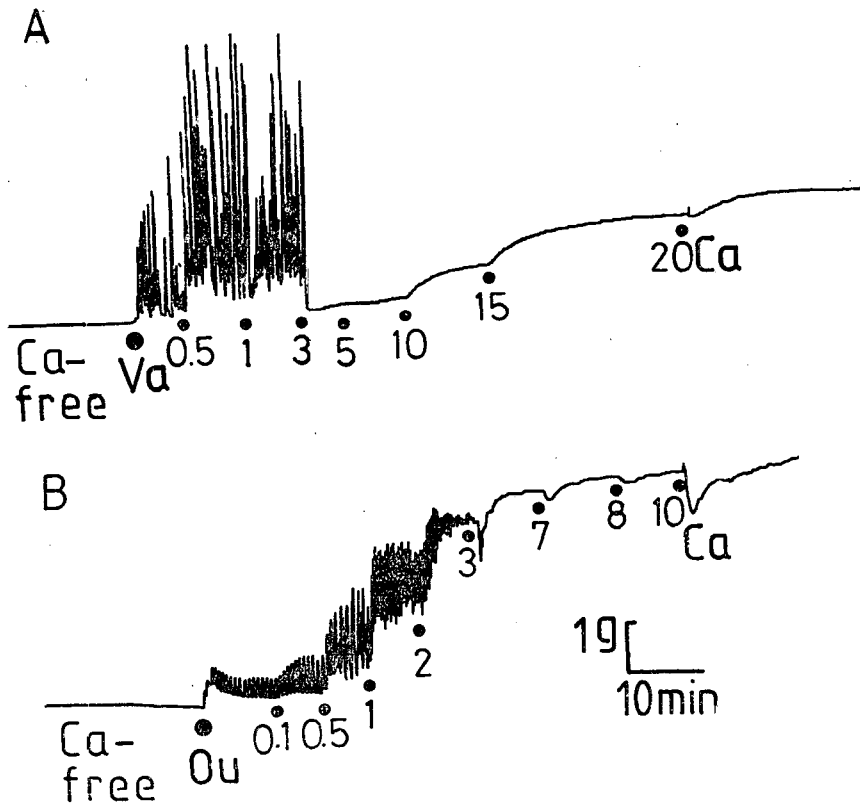


Fig. 4. The effect of external Ca^{2+} on the contraction induced by $10^{-3}M$ vanadate(A) and $10^{-4}M$ ouabain (B).

으며, vanadate는 약물을 세척했을 때 쉽게 이완이 일어났으나 ouabain에서는 쉽게 이완되지 않았다. 또한 vanadate의 작용은 가역적인 현상을 보였으나 ouabain은 약물을 세척한 후 2시간에도 ouabain을 다시 처리했을 때는 반응이 나타나지 않음으로서 비가역적인 작용을 보였다. Vanadate는 $5 \times 10^{-5} \sim 10^{-3}M$ 범위

에서 농도에 비례하여 수축의 정도가 증가하였으며 ouabain에서는 $10^{-6} \sim 10^{-4}M$ 범위에서 농도에 비례하여 증가하였고 $5 \times 10^{-4}M$ 농도에서는 $10^{-4}M$ 에 비하여 큰 차이가 나타나지 않았다(Fig. 2). 최대수축이 나타나는 $10^{-3}M$ vanadate와 $10^{-4}M$ ouabain에서 나타난 수축의 크기는 각각 100 K에 의해 유발되는 수축의 약

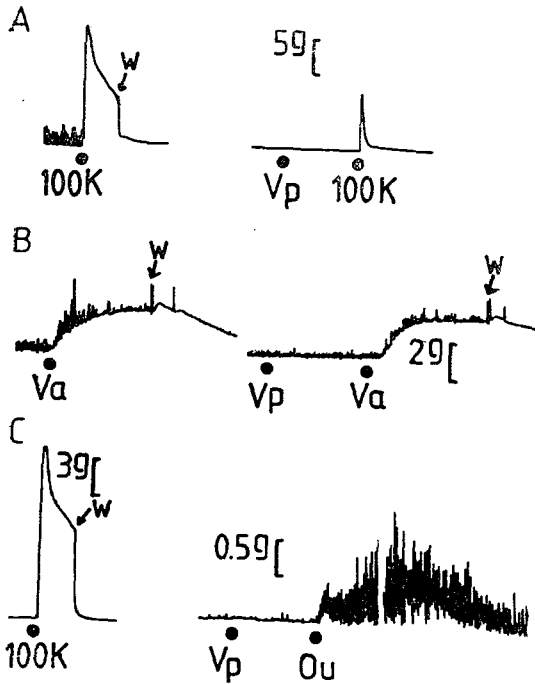


Fig. 5. The effect of $5 \times 10^{-7}M$ verapamil on the contraction induced by high K-Tyrode solution(A), $10^{-8}M$ vanadate(B) and $10^{-4}M$ ouabain(C).

48 및 28%이었다.

이후 실험에서는 vanadate와 ouabain의 농도를 각각 최대수축을 보이는 $10^{-8}M$ 과 $10^{-4}M$ 을 사용하여 그 작용의 효과를 관찰하였다.

Ouabain에 의한 수축반응은 atropine($2 \times 10^{-6}M$)에 의해 거의 억제되었으나 vanadate에 의한 수축은 전연 영향을 받지 않음으로서 ouabain은 vanadate와 달리 회장평활근에서 acetylcholine을 유리시키는 작용이 있음을 암시하고 있다¹³⁾(Fig. 3 및 Table 2).

2) 세포의 Ca^{++} 농도의 변동이 수축력에 미치는 영향

Ouabain이나 vanadate가 Ca^{++} 이 없는 용액내에서도 수축이 유발되었으나 세포의부에 Ca^{++} 의 농도를 변화시켰을때 ouabain은 Ca^{++} 의 농도가 증가함에 따라 비례하여 증가하는 양상을 보였으나 vanadate의 경우에는 외부의 Ca^{++} 의 농도가 증가하여도 수축의 정도가 비례하여 증가하지 않음으로서 vanadate는 ouabain에 비하여 외부의 Ca^{++} 농도에 민감하게 반응하지 않

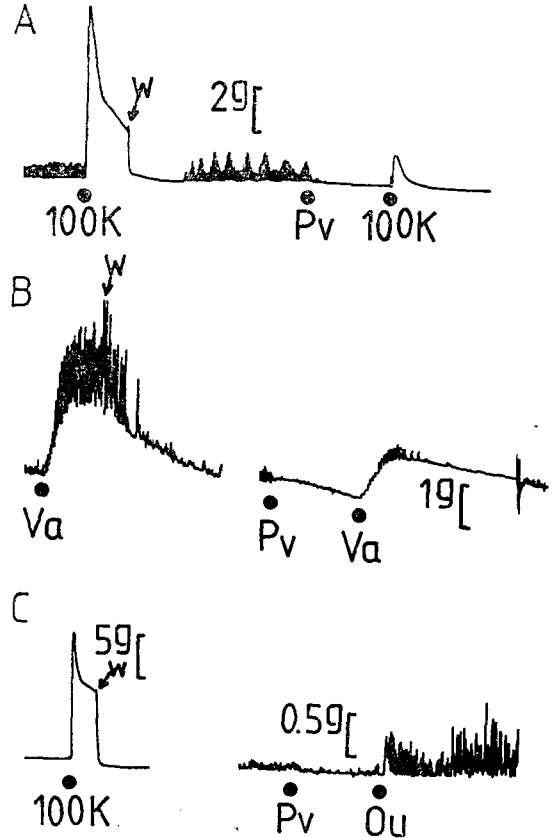


Fig. 6. Effect of $5 \times 10^{-5}M$ papaverine on the contraction induced by high K-Tyrode solution(A), $10^{-8}M$ vanadate(B), and $10^{-4}M$ ouabain(C).

는 것으로 추측된다(Fig. 4). Ca^{++} 의 길항제인 verapamil과 papaverine¹³⁾이 ouabain과 vanadate의 수축반응에 미치는 효과를 관찰한 결과(Fig. 5, 6 및 Table 2) 100 K에 의한 수축을 약 60% 억제시키는 verapamil($5 \times 10^{-7}M$) 농도에서 vanadate는 영향을 받지 않았으나 ouabain에 의한 수축은 verapamil이 존재하지 않을 때에 비해 13.5%밖에 나타나지 않았다. 한편 100 K⁺에 의한 수축을 약 90% 억제하는 papaverine($5 \times 10^{-5}M$) 농도에서도 vanadate에 의한 수축은 papaverine이 존재하지 않을 때에 비해 약 34%정도의 수축반응이 나타났으나 ouabain에 의한 수축은 약 9%밖에 나타나지 않음으로서 Ca^{++} 의 길항제에 의한 효과도 vanadate에 의한 수축이 ouabain에 의한 수축에 비해 민감하지 않음을 알수가 있다.

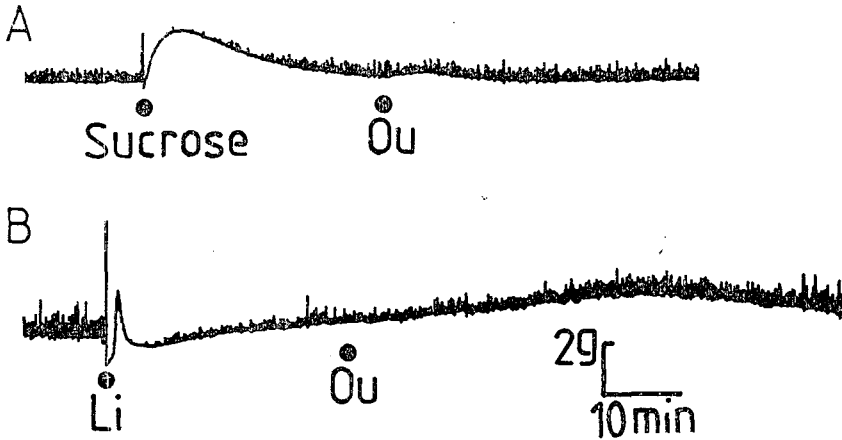


Fig. 7. Contractile response of cat ileal muscle to $10^{-4}M$ ouabain in the Na-free solution replaced by sucrose(A) and LiCl(B).

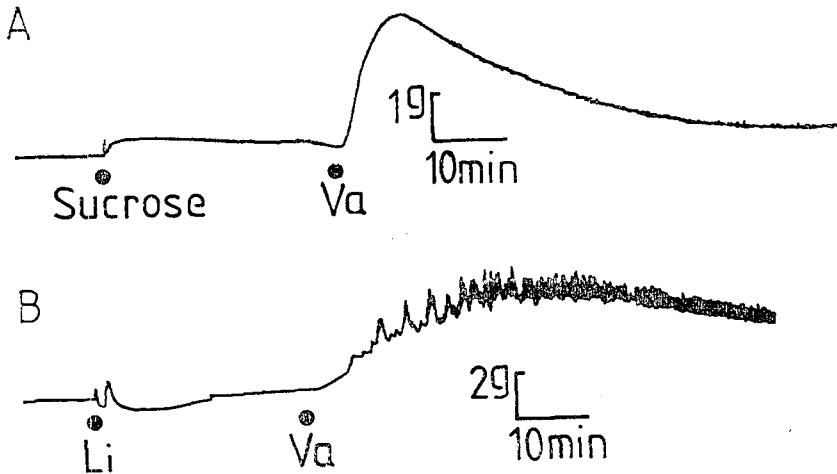


Fig. 8. Contractile response of cat ileal muscle to $10^{-3}M$ vanadate in the Na-free solution replaced by sucrose(A) and LiCl(B).

이러한 결과는 ouabain에 의한 수축시는 외부의 Ca^{++} 을 주로 이용하지만 vanadate의 경우는 ouabain 보다는 세포내부의 Ca^{++} 을 동원하는 작용이 더 크다는 것을 암시하고 있다.

3) 용액내 Na^+ 제거가 수축력에 미치는 영향

Ozaki 등²⁹⁾과 Ozaki 및 Urakawa³⁰⁾는 guinea-pig의 대동맥에서 ouabain에 의한 수축이 세포내 Na의 축적에 기인된다고 하였으며 최근에 이 및 이²⁶⁾는 고

양이 회장평활근에서 ouabain을 처리하여 세포내 Na 농도가 증가했을 때 수축의 정도가 비례하여 증가된다고 보고하였기 때문에 용액내 Na이 존재하지 않을시 ouabain 및 vanadate에 의한 수축반응을 비교하였다. Na이 sucrose나 lithium에 의해 대치되었을 때 ouabain에 의한 수축반응은 거의 나타나지 않았으나 (Fig. 7) vanadate에 의한 수축반응은 정상용액에서 나타난 것과 차이를 볼 수가 없었다(Fig. 8).

또한 Na^+ 이 없는 용액에서 ouabain이 존재할 시에

—이재양 외 3인 : 고양이 회장 평활근의 수축력에 미치는 Vanadate와 Ouabain의 작용—

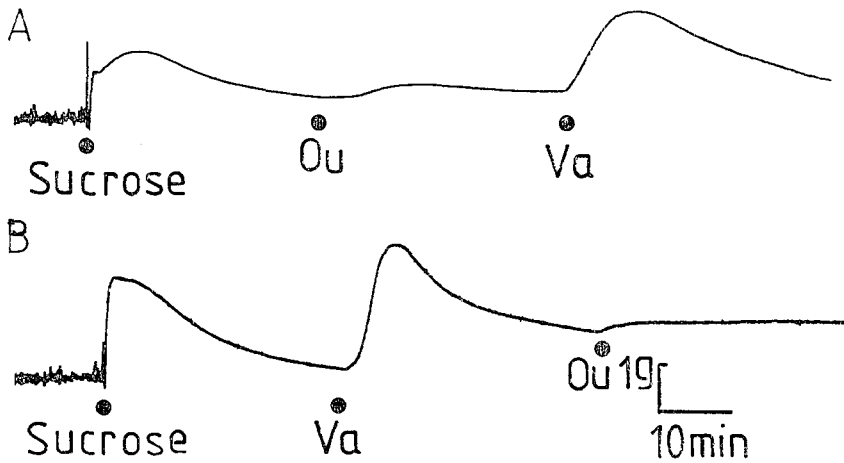


Fig. 9. Contractile response of cat ileal muscle to 10^{-4} M ouabain and 10^{-3} M vanadate in Na-free Tyrode solution replaced by sucrose.
 (A) Vanadate was added after the administration of ouabain.
 (B) Ouabain was added after the administration of vanadate.

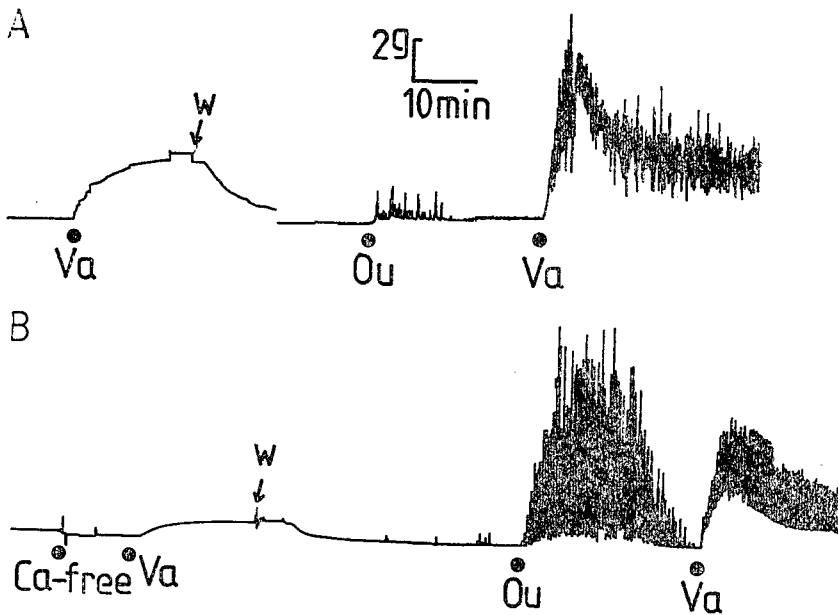


Fig. 10. The effect of pretreatment of 10^{-4} M ouabain on the contraction induced by 10^{-3} M vanadate in the presence(A) and absence(B) of Ca^{++} .

도 vanadate는 수축을 유발시켰으나 Na^{+} 이 없는 용액에서 vanadate가 존재할 때에도 ouabain은 거의 수축반응을 유발시키지 못하였다(Fig. 9).

정상용액에서 vanadate의 수축반응이 ouabain에 의해 어떤 영향을 받는지를 관찰하기 위하여 10^{-4} M

ouabain 존재하에 10^{-4} M vanadate를 작용시킨 결과 수축의 크기가 ouabain 존재하지 않을 때보다 몇 배로 증가되었다(Fig. 10-A).

이와같은 효과는 외부에 Ca^{++} 이 존재하지 않을 때에도 동일하였다(Fig. 10-B).

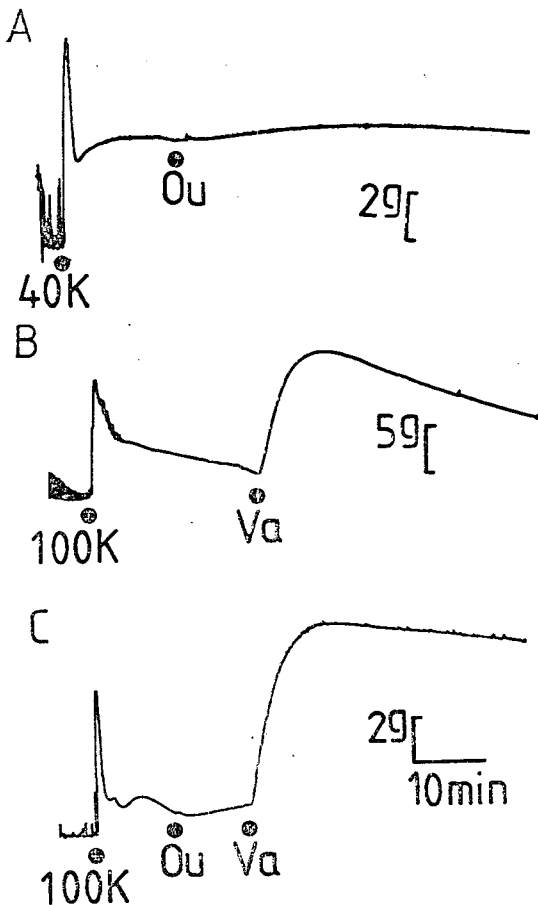


Fig. 11. (A) Effect of 40 K-Tyrode solution on the contraction induced by 10^{-4} M ouabain. (B) Effect of 100 K-Tyrode solution on the contraction induced by 10^{-3} M vanadate. (C) Effect of the addition of 10^{-3} M vanadate and 10^{-4} M ouabain on the contraction induced by 100 K-Tyrode solution.

4) 고농도의 K^+ 이 ouabain 과 vanadate 에 의한 수축력에 미치는 영향

Casteels¹⁰⁾은 ouabain 이 guinea-pig 의 결장뉴에서 탈분극을 유발시킨다고 보고하였기 때문에 고농도의 K^+ 로서 수축을 유발시킨후 ouabain 과 vanadate 를 작용시켜 이들 약물들의 효과를 관찰한 결과 Fig. 11에서 보는 바와같이 ouabain 에 의한 수축반응은 거의

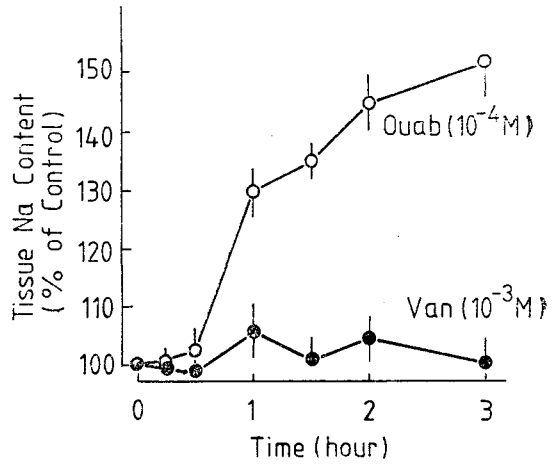


Fig. 12. Time-dependent effect of ouabain and vanadate on the tissue Na content. These values represent mean \pm SE for 3 experiments.

나타나지 않거나 미약하였으나 vanadate 의 경우에는 정상용액에서 보다 더 큰 수축이 유발되었다. 또한 vanadate 에 의한 수축반응은 ouabain 존재시에도 나타났으며 그 크기가 정상용액에서 ouabain 에 의해 증가되었던 경우와 마찬가지로 수축의 크기가 더욱 증가되었다. 따라서 ouabain 에 의한 수축은 탈분극된 상태에서는 억제되지만 vanadate 의 경우에는 전연 영향을 받지 않음을 알 수가 있다.

5) 조직내 Na^+ 농도에 대한 vanadate 와 ouabain 의 영향

세포내 Na^+ 의 영향에 대한 ouabain 과 vanadate 의 효과를 관찰한 결과 ouabain 의 경우에는 3시간까지 처리했을 때 세포내 Na^+ 의 농도가 증가되었으나 vanadate 의 경우에는 세포내 Na^+ 의 농도에 어떤 영향도 미치지 못하였다(Fig. 12).

고찰

Vanadate 가 ouabain 과 같이 Na-K-ATPase 를 강력하게 억제하기 때문에^{4,9)} 평활근에서 수축을 유발시킨 때에도 ouabain 과 같은 기전으로 작용하는지에 대해서는 흥미있는 문제로 생각된다.

본 실험결과 회장평활근에서 ouabain 에 의해서는 수축이 2중으로 나타났으나 vanadate 에 의해서는 단일

수축이 나타남으로서 ouabain과 vanadate에 의해 유발되는 수축의 양상이 서로 달랐으며 ouabain에 의해 유발되는 수축은 vanadate와는 달리 atropine에 의해 영향을 받았다.

Thomsen과 Larsen⁴⁵⁾은 쥐의 간에서 vanadate에 의한 혈관수축 효과가 atropine에 의해 영향을 받지 않는다고 하였으며 Cutler 등¹¹⁾은 토끼의 심이지장에서 ouabain의 수축작용이 억제된다고 보고함으로써 본 실험의 결과와 일치하였다.

본 실험결과 외부 Ca^{++} 이 없을 때는 ouabain이나 vanadate가 수축을 유발시켰으나 외부 Ca^{++} 의 농도 변화에 대한 수축의 반응과 Ca^{++} 의 길항제에 대한 반응은 두 약물간에 차이를 보였다. 즉 vanadate의 경우에는 외부 Ca^{++} 의 농도가 증가하여도 ouabain의 경우만큼 민감하게 반응하지 않고 verapamil이나 papaverine에 의해서도 vanadate의 수축반응은 ouabain에 의한 것보다 영향이 적었다.

따라서 vanadate가 수축을 유발시킬 때는 ouabain에 비해 세포외부의 Ca^{++} 에 민감하게 반응하지 않는 것으로 생각된다.

Ozaki와 Urakawa³¹⁾는 guinea-pig의 대동맥에서 외부에 Na^+ 이 없는 상태에서도 vanadate는 정상용액에서와 차이없는 수축을 유발시킨다고 하였으며, Ueda 등⁴⁷⁾도 guinea-pig결장뉴에서 Na^+ 이 choline이나 K^+ 으로 대체된 상태에서 ouabain은 수축을 유발시키지 못하지만 vanadate는 수축을 유발시킨다고 보고함으로써 세포 외부의 Na^+ 이 vanadate의 수축에 어떤 영향을 미치지 못함을 알 수가 있다. 본 실험에서도 Na^+ 을 sucrose나 Li^+ 으로 대체했을 때 ouabain에 의한 수축은 거의 나타나지 않았으나 vanadate에 의한 수축은 정상용액에서와 같은 크기로 나타났으며 또한 ouabain 존재하에 vanadate를 작용시켰을 때 수축의 크기가 ouabain이 없을 때에 비해 더욱 증가되어 나타남으로서 vanadate에 의한 수축반응이 Na-K-ATPase 억제에 기인되지 않음을 알 수가 있다. 이와같은 사실은 $10^{-8}M$ vanadate를 3시간동안 처리했을 경우에도 ouabain에서와 달리 세포내 Na^+ 의 농도에는 영향이 없음을 보인 결과로서도 뒷받침된다.

본 실험결과 고농도의 K^+ 으로 처리한 후 ouabain과 vanadate에 의한 영향을 관찰한 결과 ouabain은 거의 수축을 유발시키지 못했으나 vanadate는 정상용액에서 보다 큰 수축이 유발되었다. 이때에도 ouabain의 존재하에서 vanadate에 의한 수축은 더욱 증가되었다(Fig. 1).

Bose⁸⁾, Rider 등¹⁸⁾도 각각 guinea-pig의 결장뉴와 소장에서 ouabain은 세포외부에 고농도의 K^+ 이 존재할 때는 수축반응이 나타나지 않는다고 하였으며 Ueda 등⁴⁷⁾도 guinea-pig의 결장뉴에서 ouabain은 K^+ 에 의해 유발된 수축에 큰 효과를 나타내지 못하였으나 vanadate를 적용했을 때는 수축을 유발시킨다고 하였다.

특히 Rider 등¹⁸⁾은 세포외부에 고농도의 K^+ 존재하에 ouabain의 수축효과가 나타나지 않는 것은 ouabain의 농도를 증가시키거나 incubation 기간을 연장시켜도 같은 결과가 나타나기 때문에 K^+ 이 ouabain의 효과를 길항적으로 작용하거나 Na-K-ATPase에 ouabain의 결합을 방해함으로써 나타나는 결과로 보지 않는다고 하였다.

따라서 이들 결과들은 ouabain이 탈분극된 근육에서는 수축효과가 나타나지 않는다는 것을 가르키며 ouabain에 의한 수축정도는 vanadate와는 달리 어느 정도 세포외부의 전압이나 세포내 Na^+ 농도에 의존하는 것으로 추측된다.

이전에 여러 연구자들이 guinea-pig의 결장뉴^{8,21,23,24,34-36)} 및 소장²⁰⁾에서 고농도의 K^+ 에 의해 유발되는 수축이 ouabain에 의해 억제된다고 하였으나 본 실험의 결과에서는 관찰할 수가 없었다. 이러한 차이에 대해서는 본 실험의 결과로서는 정확히 알 수 없으나 ouabain에 대한 효과는 소장⁴¹⁾, 혈관²²⁾ 및 자궁¹²⁾에서 동물 종류에 따라 차이가 많은 것으로 알려져 있기 때문에 동물 종의 차이에서 올 수도 있는 결과인 것으로 사료된다. 혈관 평활근에서는 ouabain이 Na-K-ATPase를 억제함으로써 2차적으로 세포내 Ca^{++} 의 농도를 증가시키거나^{15,25,38)} catecholamine을 유리^{32,33,46)}시킴으로써 그의 작용을 나타낼 것으로 보고 있다. 그러나 장관 평활근에서 ouabain이 어떤 기전으로 수축을 유발하는지에 대해서는 아직까지 명확히 알 수 없지만 ouabain이 Na-K-ATPase를 특이하게 억제하는 약물이기 때문에³⁹⁾ 이 효소의 억제작용이 수축을 유발시키는 작용과 적어도 연관을 가지고 있을 것으로 생각된다. 그러나 vanadate의 경우는 Na-K-ATPase를 억제하는 작용을 가지고 있지만⁹⁾ 본 실험 결과에서 수축을 유발시키는 경우에는 ouabain과 상당한 차이를 보이고 있고 또한 3시간동안 vanadate를 처리했을 때 세포내 Na^+ 과 K^+ 의 농도에 아무런 영향을 미치지 못함으로써 vanadate의 수축작용은 Na-K-ATPase 억제와 직접 관계가 없는 것으로 생각된다.

Vanadate는 ouabain과 달리 Ca-ATPase를 억제

하고 있기 때문에^{1,6,42)} Thomse과 Larsen⁴⁵⁾이 혈관에서 추축한대로 평활근의 sarcoplasmic reticulum의 Ca-ATPase를 억제하여 세포내 Ca⁺⁺농도를 증가시킴으로서 수축을 유발시킬지도 모르며 이에 대한 정확한 기전은 더욱 추구해 보아야만 밝혀질 것으로 생각된다.

요 약

Vanadate의 최장 평활근에 대한 수축작용이 Na-K-ATPase를 억제하기 때문인지를 구명하기 위하여 Na-K-ATPase를 억제하는 ouabain과의 작용의 차이를 관찰한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1) Ouabain에 의해 나타나는 수축은 2중 peak를 나타내었으나 vanadate에 의해서는 단일 peak만을 보였다.

2) Ouabain에 의한 수축은 atropine(2×10⁻⁶M)에 의해 강력하게 억제되었으나 vanadate의 작용은 영향을 받지 않았다.

3) Ouabain에 의한 수축은 vanadate에 비해 외부의 Ca⁺⁺농도 및 Ca-길항제에 대해 민감하게 영향을 받았다.

4) 용액내 Na⁺이 없거나 혹은 고농도의 K⁺존재하에서 ouabain에 의한 수축반응은 거의 나타나지 않았으나 vanadate에 의한 수축은 영향을 받지 않았다.

5) Vanadate에 의한 수축은 ouabain 존재시에 더욱 증가되었다.

6) 3시간동안 incubation한 결과 vanadate는 ouabain과 달리 세포내 Na⁺의 농도에 영향을 미치지 못하였다.

이상의 결과로 보아 ouabain과 vanadate는 서로 다른 기전에 의해 최장 평활근에서 수축반응을 유발시키는 것으로 추측된다.

참 고 문 헌

1) Adams, R.J. and Schwartz, A.: *Purification and characterization of cardiac sarcolemma: Effect of vanadate on Na-K-ATPase and Ca-ATPase. Fed. Proc.*, 39:979, 1980.

2) Akera, T. and Brody, T.M.: *The role of Na⁺-K⁺-ATPase in the inotropic action of digitalis. Pharmacol. Rev.*, 29:187, 1977.

3) Akera, T., Takeda, K., Yamamoto, S. and Brody, T.M.: *Effects of vanadate on Na-K-ATP-*

ase and on the force of contraction in guinea-pig hearts. Fed. Proc., 38:744, 1979.

4) Beauge, L.A. and Glynn, I.M.: *Commercial ATP containing traces of vanadate alters the response of (Na⁺+K⁺) ATPase to external potassium. Nature*, 272:551, 1978.

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

6) Bond, G.H. and Hudgins, P.M.: *Kinetics of inhibition of red cell membrane Ca-ATPase by pentavalent vanadium. Fed. Proc.*, 37:313, 1978.

7) Borchard, U., Fox, A.A.L., Greeff, K. and Schlieper, P.: *Negative and positive inotropic action of vanadate on atrial and ventricular myocardium. Nature*, 279:339, 1979.

8) Bose, D.: *Mechanism of mechanical inhibition of smooth muscle by ouabain. Br. J. Pharmacol.*, 55:111, 1975.

9) Cantley, L.C., Josephson, L., Warner, R., Yanagisawa, M., Lechene, C. and Guidotti, G.: *Vanadate is a potent (Na, K)-ATPase inhibitor found in ATP derived from muscle. J. Biol. Chem.*, 252:7421, 1977.

10) Casteels, R.: *The action of ouabain on the smooth muscle cells of the guinea-pig's taenia coli. J. Physiol.*, 184:131, 1966.

11) Cutler, M.G., Moore, M.R. and Dick, J.M.: *Effects of δ-aminolaevulinic acid on contractile activity of rabbit duodenum. Eur. J. Pharmacol.*, 64:221, 1980.

12) Daniel, E.E.: *The interconnection between active transport and contracture in uterine tissues. Can. J. Physiol. Pharmacol.*, 42:453, 1964.

13) Elmqvist, D. and Feldman, D.S.: *Calcium dependence of spontaneous acetylcholine release at mammalian motor nerve terminals. J. Physiol.*, 181:487, 1965.

14) Erdmann, E., Krawietz, W., Philipp, G., Hackbarth, I., Schmitz, W. and Scholz, H.: *Stimulatory effect of vanadate on (Na⁺+K⁺)-ATPase activity and on ³H-ouabain-binding in a cat heart cell membrane preparation. Nature*, 278:

- 459, 1979.
- 15) Forker, E.L.: *Mechanisms of hepatic bile formation. Ann. Rev. Physiol.*, 39:323, 1977.
 - 16) Grupp, G., Grupp, I., Johnson, C.L. and Schwartz, A.: *Effects of vanadate and ouabain on contractile force of rat, guinea-pig, rabbit and cat atria and ventricles. Fed. Proc.*, 38: 1042, 1979.
 - 17) Hackbarth, I., Schmitz, W. and Scholz, H.: *Positive inotropism of vanadate in cat papillary muscle. Nature*, 275:67, 1978.
 - 18) Hider, R.C., Smart, L. and Suleiman, M.S.: *The effect of harmaline and related harmala alkaloids on ouabain-stimulated contractions of the guinea-pig ileum. Eur. J. Pharmacol.*, 71: 87, 1981.
 - 19) Hudgins, P.N. and Bond, G.H.: *Alteration by vanadate of contractility in vascular and intestinal smooth muscle preparations. Pharmacol.*, 23:15, 1981.
 - 20) James, M.R. and Roufogalis, B.D.: *The effect of ouabain on the guinea-pig ileum longitudinal smooth muscle: 2. Intracellular levels of Ca, Na, K and Mg during the ouabain response and the dependence of the response on extracellular Ca. Can. J. Physiol. Pharmacol.*, 55: 1197, 1977.
 - 21) Karaki, H., Ikeda, M. and Urakawa, N.: *Effects of ouabain and 2,4-dinitrophenol on calcium distribution and exchange in guinea-pig taenia coli in high-potassium solution. Japan. J. Pharmacol.*, 20:530, 1970.
 - 22) Karaki, H., Ozaki, H. and Urakawa, N.: *Effects of ouabain and potassium-free solution on the contraction of isolated blood vessels. Eur. J. Pharmacol.*, 48:439, 1978.
 - 23) Kishimoto, T., Ozaki, H. and Urakawa, N.: *A quantitative relationship between cellular Na accumulation and relaxation produced by ouabain in the depolarized smooth muscle of guinea-pig taenia coli. Naunyn-Schmiedeb. Arch. Pharmacol.*, 312:199, 1980.
 - 24) Kishimoto, T. and Urakawa, N.: *Effects of ouabain on high-K induced contractions of various smooth muscle tissues in the guinea-pig. Japan. J. Pharmacol.*, 32:551, 1982.
 - 25) Lang, S. and Blaustein, M.P.: *The role of the sodium pump in the control of vascular tone in the rat. Circ. Res.*, 46:463, 1980.
 - 26) 이현식, 이상호 : 고양이 회장 평활근에서 Na-free 용액에 의한 수축에 미치는 Na^+ 및 Ca^{2+} 의 영향. 부산의대잡지, 23:179, 1983.
 - 27) Matthews, E.K. and Sutter, M.C.: *Ouabain-induced changes in the contractile and electrical activity, potassium content and response to drugs of smooth muscle cells. Can. J. Physiol. Pharmacol.*, 45:509, 1967.
 - 28) Myers, T.D. and Boerth, R.C.: *Interactions of ouabain and vanadate with (Na^+, K^+) -ATPase and isolated cardiac muscle. Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 96:39, 1980.
 - 28) Ozaki, H., Karaki, H. and Urakawa, N.: *Possible role of Na-Ca exchange mechanism in the contractions induced in guinea-pig aorta by potassium free solution and ouabain. Naunyn-Schmiedeb. Arch. Pharmacol.*, 304:203, 1978.
 - 30) Ozaki, H. and Urakawa, N.: *Na-Ca exchange and tension development in guinea-pig aorta. Naunyn-Schmiedeb. Arch. Pharmacol.*, 309: 171, 1979.
 - 31) Ozaki, H. and Urakawa, N.: *Effects of vanadate of mechanical responses and Na-K pump in vascular smooth muscle. Eur. J. Pharmacol.*, 68:339, 1980.
 - 32) Palaty, V.: *The transient contractile response of the isolated rat tail artery to inhibition of the sodium pump. Can. J. Physiol. Pharmacol.*, 58:336, 1980.
 - 33) Palaty, V.: *Release of noradrenaline from the rat tail artery induced by inhibition of the sodium pump in calcium-free solution. Can. J. Physiol. Pharmacol.*, 59:347, 1981.
 - 34) Pfaffman, M. and Holland, W.C.: *Effects of ouabain and 2,4-dinitrophenol on Ca exchange in taenia coli. Am. J. Physiol.*, 211:400, 1966.
 - 35) Pfaffman, M., Urakawa, N. and Holland, W. C.: *Role of metabolism in K-induced tension*

- changes in guinea-pig taenia coli. Am. J. Physiol.*, 208:1203, 1965.
- 36) Schatmann, H.J. and Ackermann, H.: *Die strophanthinwirkung am darmmuskel und ihre beziehung zum kationengehalt des mediums. Helv. Physiol. Pharmacol. Acta*, 19:196, 1961.
- 37) Schmitz, W., Hackbarth, I. and Scholz, H.: *Effect of vanadate on force of contraction in mammalian cardiac muscle. Naunyn-Schmiedeb. Arch. Pharmacol.*, 307:R37, 1979.
- 38) Schwartz, L.R., Schwank, W., Pfaff, E. and Greim, H.: *Uptake of taurocholic acid into isolated rat-liver cells. Eur. J. Biochem.*, 55: 617, 1975.
- 39) Schwartz, A., Lindenmayer, G.E. and Allen, J.C.: *The sodium-potassium adenosine triphosphatase: pharmacological, physiological and biochemical aspects. Pharmacol. Rev.*, 27:3, 1975.
- 40) Schwartz, A., Lindenmayer, G.E., Allen, J.C. and McCans, J.L.: *The nature of the cardiac glycoside enzyme complex: Mechanism and kinetics of binding and dissociation using a high-activity heart Na^+ , K^+ -ATPase; antibody to "Digitalis site." Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 242:577, 1974.
- 41) Shimizu, K., Kurosu, Y., Nakajyo, S. and Urakawa, N.: *Species differences in the ouabain sensitivity of the small intestine in contractile response. Japan. J. Vet. Sci.*, 41:139, 1979.
- 42) Simons, T.J.B.: *Vanadate-a new tool for biologists. Nature*, 281:337, 1979.
- 43) Skou, J.C.: *Enzymatic basis for active transport of Na^+ and K^+ across cell membrane. Physiol. Rev.*, 45:596, 1965.
- 44) Takeda, K., Yamamoto, S., Akera, T. and Brody, T.M.: *Effects of vanadate on contractility, action potential and ^{86}Rb uptake in atrial and ventricular muscle of rat and guinea-pig. Pharmacol.*, 21:276, 1979.
- 45) Thomsen, O. and Larsen, J.A.: *Comparison of vanadate and ouabain effects on liver hemodynamics and bile production in the perfused rat liver. J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 221:197, 1982.
- 46) Toda, N.: *Mechanisms of ouabain-induced arterial muscle contraction. Am. J. Physiol.*, 239: H199, 1980.
- 47) Ueda, F., Kishimoto, T., Ozaki, H. and Urakawa, N.: *Dual actions of vanadate on high-K induced contraction in guinea-pig taenia coli. Japan. J. Pharmacol.*, 32:149, 1982.
- 48) Urakawa, N., Karaki, H. and Ikeda, M.: *Effects of ouabain and metabolic inhibiting factors on Ca distribution during K-induced contraction in guinea-pig taenia coli. Japan. J. Pharmacol.*, 20:360, 1970.