

Adenosine의 심장 및 혈관에 대한 약리작용

안형수 · 이영미

동덕여자대학교 약학대학

(2010년 12월 21일 접수 · 2011년 3월 25일 수정 · 2011년 3월 25일 승인)

Pharmacological Action of Adenosine on the Cardiovascular System

Hyung Soo Ann and Young Me Lee

College of Pharmacy, Dongduk Women's University, Seoul, 136-714, Korea

(Received December 21, 2010 · Revised March 25, 2011 · Accepted March 25, 2011)

Bolus intravenous injection of adenosine resulted the temporal decrease of systemic blood pressure and heart rate in the anesthetized rats. Adenosine also resulted the persistent decrease of contractility and heart rate in the isolated spontaneously beating rat right atria. Both of the above inhibition effects of adenosine were increased by the pretreatment of NBI (nitrobenzylthioinosine), which is an adenosine transport inhibitor, but decreased by the pretreatment of 8-phenyltheophylline, which is an adenosine antagonist. In isolated thoracic aorta ring segment of normotensive rats, intact rings were relaxed by adenosine ($42.3 \pm 8.7\%$) and ATP ($85.9 \pm 15.8\%$) in the concentration of 10^{-4} M, but rubbed rings were relaxed by adenosine ($35.2 \pm 1.9\%$) and ATP ($11.3 \pm 9.0\%$) in 10^{-4} M. After pretreatment of L-NAME (N-Nitro-L-arginine methyl ester), which is an NO inhibitor, adenosine-induced relaxation was not affected, but ATP-induced relaxation was significantly inhibited ($P < 0.01$). Meanwhile, adenosine resulted almost same as vasorelaxation in isolated thoracic aorta of SHR comparing to those of normotensive rats. But, vasodilation responses of ATP in intact rings of SHR are significantly inhibited comparing to those of normotensive rats. Adenosine-induced relaxation is attenuated after 8-phenyltheophylline pretreatment, but increased after NBI pretreatment. However, ATP-induced relaxations are not affected by 8-phenyltheophylline or NBI pretreatment. These results suggested that the hypotensive effects of adenosine was due to the decrease of contractile force and heart rate through the A1 receptor and vasodilation are mediated by A2 receptor of the vascular smooth muscle. And, the heart protective and vasodilation effects of adenosine might suggest that it would be useful in the acute treatment of coronary artery disease.

□ Key words - adenosine, ATP, vasodilation, hypotensive effect

Adenosine은 세포내로 유입되어 ATP합성의 전구물질로 작용할 뿐만 아니라, 가역적으로 ATP의 분해에 의해 생성될 수도 있는 원래 생체내 존재하는 nucleoside의 일종이다. 이들은 세포내에서 energy 자원으로 가치가 있을 뿐만 아니라, 심장 및 혈관 평활근에 대해서도 직접적인 조절작용이 있다.¹⁾ 즉, adenosine은 교감신경의 과다 흥분시 ATP로부터 생성되어 심장의 운동을 억제하고 관상혈관을 확장시켜 심근에 혈액공급을 증가시킴으로써 심장 보호작용을 나타낸다.²⁾

1978년 Burnstock은 purine 수용체를 adenosine에 친화력이 강한 P₁ 수용체와 ATP에 친화력이 강한 P₂ 수용체로 분류하였으며,³⁾ Londos 등은 adenosine 수용체인 P₁ 수용체를 세포내에 존재하는 P 부위와 세포밖에 존재하는 R 부위로

분류하였고, 그 중에서 R 부위를 다시 A₁(Ri)과 A₂(Rs)의 두가지로 세분류하였다.⁴⁾ 현재, adenosine 수용체는 A₁, A_{2A}, A_{2B}, A₃의 4가지로 세분류 되는데, 이중 A₁ 수용체는 심장에 존재하며 adenylylase 억제를 나타내는 고친화성 수용체이며, 반면에 A₂ 수용체는 주로 혈관 평활근에서 adenylylase 흥분 효과를 나타내는 저친화성 수용체이다.⁵⁾ 즉, adenosine의 심장 억제효과는 A₁ 수용체를 매개로 심근에서 수축력 증가를 억제하며, 동방결절에서 자동성을 억제하고, 또한 방실결절에서 자극전도를 억제하므로써 심박수를 억제한다.⁶⁾ 반면에, A₁ 수용체와는 달리 adenosine A_{2A} 수용체는 관상혈류를 증가시키고 심장의 수축력을 증가시킨다.⁷⁾ Adenosine의 심장에서의 작용기전은 심방과 심실에서 서로 다르다. 즉, 심방의 동방결절에서는 A₁ 수용체에 작용하여 세포밖으로 K⁺의 유출을 증가시킴으로써 활동전위의 지속시간을 단축시키고 과분극을 초래하여 심박수의 감소를 직접적으로 가져올 뿐만 아니라, 또한, adenosine은 교감신경 흥분시 초래되는 세포내 cAMP를 증가를 억제하여 Ca⁺⁺ 유

Correspondence to : 안형수

동덕여자대학교 약학대학

서울시 성북구 하월곡동 23-1, 우) 136-714

Tel: +82-2-940-4524, Fax: +82-2-940-4195

E-mail: hyungsoo@dongduk.ac.kr

입을 감소시키므로써 방실결절에서 자극전도를 억제하고, 불응기를 연장시킨다. 즉, 교감신경 흥분을 억제하는 간접적인 항 adrenaline 작용도 지니 서맥을 초래한다. 반면에, 심근세포에서는 직접적인 수축력의 억제 효과는 없이 β -효능약 등의 자극으로 활성화된 adenylyate cyclase를 억제하여 cAMP 감소를 통해 Ca^{++} channel의 억제로 수축력이 저하하는 간접적인 작용만을 지닌다.⁸⁾

한편, adenosine에 의한 혈관확장작용은 A2 수용체를 매개로 adenylyate cyclase를 활성화시키므로써 초래된다. 그러나 이러한 혈관확장작용의 기전에 대해서는 아직 논란이 되고있다. 즉, 이것은 내피세포에서 NO의 유리에 의한 것이 아니라, Ca^{++} 이 활성화시키는 K^+ channel의 작용에 의해서라고 하였다.⁹⁾ 반면에, adenosine 효능약인 NECA에 의한 관상혈류 증가효과가 NO 합성 억제제인 NAME 전처치시 감소되므로 adenosine A2A 수용체를 매개로 한 관상혈관확장이 NO의 유리에 의한 것이라고 하였다.¹⁰⁾ 또한, Adenosine의 혈관확장작용이 NO의 생성을 증가시키고, K^+ channel의 open에 의한 두가지 작용에 의해 초래된다고도 하였다.¹¹⁾ 이러한 adenosine의 혈관이완 작용은 동물의 종, 계통, 나이, 혈관의 종류 등에 따라 동일 약물에 있어서도 반응의 차이가 크며, 또한 세포막의 수용체 및 세포내 작용기전 상의 차이가 있다. 즉, 돼지의 대동맥에서는 adenosine이 내피세포 의존성 이완반응을 보인 반면에, 흰쥐의 대동맥에서는 내피세포 비의존성 반응을 보고하였다. 또한, 동일한 흰쥐의 대동맥에 있어서도 나이에 따른 차이가 있어 어린 동물에 있어서는 내피세포 의존성 이완반응을 나타내는 반면에, 늙은 동물에 있어서는 내피세포 비의존성 이완반응을 초래한다고 하였다.¹²⁻¹⁴⁾ Adenosine은 흰쥐 관상동맥에서 A2B와 A3 수용체를 통해 혈관확장을 초래하는데, 노화시 A2B 수용체는 변화가 없지만, A3 수용체 반응이 감소된다고 하였다.¹⁵⁾

임상적으로 adenosine은 재침입 기전에 의한 급성의 상실성 빈맥에 주사제로 사용되며, 또한 수술시 저혈압을 유지하기 위해, 그리고 관상혈관 질환의 진단에도 사용된다. 정맥내로 ATP를 주사하면 adenosine과 유사한 효과를 나타낸다. Adenosine A1 효능약은 용량 의존적으로 서맥과 저혈압을 초래하며, 또한 고용량시 서맥은 보다 지속적으로 나타난다.¹⁶⁾ 반면에, 심장을 촉진하는 adenosine A1 길항약은 임상적으로 심부전증의 치료제로 개발 중이다.¹⁷⁾ Adenosine은 혈관확장작용과 심장의 과도한 흥분에 대한 억제작용을 지니므로 임상적으로 허혈성 심질환과 같은 관상혈관 질환시 심장을 보호하는 약효를 기대할 수 있다. 그러나 그 자체적으로는 지속시간이 짧아 보다 지속적으로 작용할 수 있는 유도체의 개발 등이 제시된다. 이에 본 실험에서는 마취된 흰쥐와 흰쥐의 적출 우심방을 사용하여 adenosine의 직접작용과 간접작용에 관한 작용기전을 규명하고자 하며, 또한 혈관이완작용을 정상흰쥐와 내피세포가 일부 손상된 선천성 고혈압 흰쥐의 흉곽대동맥을 사용하여 평활근세포 및 내피세포에 대한

작용으로 각각 구분하여 ATP의 반응과 내피세포 의존성 혈관 반응성을 비교 검토하고자 한다.

실험방법

시약 및 실험동물

시약은 S-(P-nitrobenzyl)-6-thio-inosine (NBI, $C_{17}H_{17}N_5O_6S$ MW=419.4), N-nitro-L-arginine methylester HCL (L-NAME MW=269.7), N₆-cyclohexyl adenosine (CHA, $C_{16}H_{23}N_5O_4$ FW=308.3), 5'-(N-ethylcarboxamido)-adenosine (NECA, $C_{12}H_{16}N_6O_4$ FW=308.3)을 Sigma Chemical (St, Louis, Mo)로부터 구입하여 사용하였다. 실험동물은 정상 흰쥐는 체중 약 250 g 정도의 Sprague-Dawley계 숫컷 흰쥐를 사용하였으며, 고혈압 흰쥐는 동일 체중범위의 Okamoto 계 Spontaneously Hypertensive Rat를 사용하였다.

마취된 흰쥐에서의 혈압 및 심박수 변화

25% urethane (6 mg/kg s.c.)와 ketamine (5 mg/kg, i.m.)으로 30분간 마취시킨 흰쥐의 총경동맥 중 한 개를 신경과 분리하여 노출시킨 뒤 상부를 실로 결찰하여 뇌로 가는 혈류를 차단하고, 10% heparin을 채운 canule이 빠지지 않도록 삽입, 결찰 후 Grass Model 7E polygraph의 transducer와 amplifier를 연결시켜 혈압과 심박수를 측정하였다. 약물투여를 위해 대퇴정맥으로 saline을 채운 needle을 삽입시키고 약 30분 간 안정시켰다. 약물로는 adenosine을 0.03, 0.1, 0.3 mg/kg을 각각 bolus로 정맥주사하였다. 다시 안정시킨 후에 8-phenyltheophylline 10 mg/kg 또는 75% dimethylsulfoxide로 용해시킨 NBI 10 mg/kg를 정맥주사하여 전처치 한 후 다시 adenosine 0.03, 0.1, 0.3 mg/kg을 각각 bolus로 정맥주사하였다. 수축기 및 확장기 혈압으로부터 평균 혈압을 산출하였으며, 혈압 및 심박수의 변화를 측정하였다.

적출 우심방에서의 수축력 및 심박수 변화

Ether로 마취시킨 흰쥐로부터 신속히 심장을 적출하여 95% O_2 와 5% CO_2 로 포화시킨 37°C의 Krebs-Henseleit 용액(KCL 4.8 mM, $CaCl_2$ 1.75 mM, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 1.2 mM, KH_2PO_4 1.0 mM, NaCl 118.0 mM, $NaHCO_3$ 27.2 mM, Glucose 11.1 mM, EDTA 0.03 mM을 가하고 pH 7.4로 맞춘) 중에서 우심방을 분리해 낸 후 20 ml 용적의 organ bath 내에 현수하고 2 g의 resting tension을 주었다. 약 1시간 동안 안정화시킨 후, 약물을 organ bath 내에 투여하고 수축력 및 심박수 변화를 polygraph상에 그래프로 나타내었다. 수축력과 심박수의 변화는 약물투여 직전의 수치를 100%로 하여 백분율로 나타내었다.

Adenosine 4×10^{-7} , 4×10^{-6} , 4×10^{-5} M을 가한 후 10분간씩 수축력과 심박수의 변화를 측정하였다. 이어서 8-phenyltheophylline과 NBI의 전처치 후 다시 adenosine을 가

하고 수축력과 심박수의 변화를 측정하였다. 또한 adenosine 대신에 10% dimethylsulfoxide로 용해시킨 CHA와 NECA를 3×10^{-10} , 9×10^{-10} , 3×10^{-9} , 9×10^{-9} M 농도로 가하였다.

적출 혈관반응 실험

흰쥐를 ether 마취하 복부를 절개하고, 복부대정맥을 잘라 사혈시킨 후, 즉시 흉곽대동맥을 잘라내고 37°C , 95% O_2 - 5% CO_2 로 포화시킨 Krebs-Henseleit 생리용액에 담근다. 흉곽 대동맥을 길이 약 5 mm의 ring form으로 절단하고 분절의 필요없는 조직들을 제거하여 organ bath 내에 현수한다. Gould transducer amplifier에 연결된 Grass FTO3C force transducer 로 등장성 수축반응을 측정하였다. 2 g의 basal tension 을 주면서 약 1시간 동안 안정화시킨 후, 약물의 수축 이완반응을 측정하였다. 약물의 이완반응을 보기 위해서는 우선 norepinephrine 10^{-7} M 으로 수축시킨 후 약물을 농도별로 누적법으로 가하여 이완반응을 초래하였으며, norepinephrine에 의한 수축반응을 100%로 하여 이완반응을 계산하여 %로 나타내었다. 내피세포의 제거는 작은 나무로 내피를 물리적으로 문질러 제거하였으며, 내피의 존재여부는 acetylcholine 10^{-6} M 투여시 75%이상 이완반응이 일어나면 내피세포가 존재한다고 판정하였다. 내피세포 존재 및 손상시 adenosine (10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} , 3×10^{-4} M) 및 ATP (10^{-7} , 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} M) 를 각각 가한 후 혈관 이완반응을 측정하였다. 이어서 8-phenyltheophylline와 NBI의 전처치 후 다시 adenosine 또는 ATP를 가하고 혈관반응을 측정하였다. 또한 adenosine 대신에 10% dimethylsulfoxide로 용해시킨 CHA와 NECA를 가하여 혈관반응을 측정하였다.

통계처리

결과는 means±S.E.로 표시하였으며, 유의성 검정은 Student's unpaired *t*-test 로 실시하였다.

결과 및 고찰

마취된 흰쥐에서의 혈압 및 심박수 변화

Urethane으로 마취시킨 정상 흰쥐에게 adenosine을 대퇴정맥에 정맥주사시 혈압 및 심박수의 변화를 Fig. 1에 나타내었다.

Adenosine 투여시 즉시 혈압 및 심박수의 감소가 용량 의존적으로 나타났으며, 지속시간은 1분 이내로 일시적이었다. 즉, adenosine 0.01, 0.1, 0.3 mg/kg의 용량으로 정맥주사시 평균 혈압은 각각 13 ± 2 , 27 ± 3 , 73 ± 4 mmHg 감소되었으며, 심박수는 각각 20 ± 1 , 73 ± 6 , 240 ± 15 beats/min 억제되어 혈압과 심박수가 용량 의존적으로 억제효과를 나타내었다(Table 1).

한편, adenosine 재흡수 억제제인 NBI 2 mg/kg의 전처치 후 adenosine을 재투여시 평균 혈압의 감소는 20 ± 3 , 42 ± 5 , 94 ± 12 mmHg이었으며, 심박수의 감소는 50 ± 6 , 85 ± 10 , 275 ± 34 beats/min로 대조군에 비해 유의성 있는 증가를 나타내었다.

Adenosine은 세포 밖에서 세포내로 uptake되어 adenosine deaminase 등의 효소에 의하여 분해되는데 이때 NBI는 dipyridamole이나 diazepam처럼 uptake를 차단하여 세포밖의 adenosine 농도를 증가시킴으로써 그 작용을 증가시킨다는 기 보고와 일치함을 보여준다.¹⁸⁾ 반면에, adenosine 길항약인 8-phenyltheophylline 10 mg/kg을 전처치 한 후 adenosine을 재투여시 평균 혈압의 감소는 각각 6 ± 1 , 13 ± 2 , 35 ± 4 mmHg

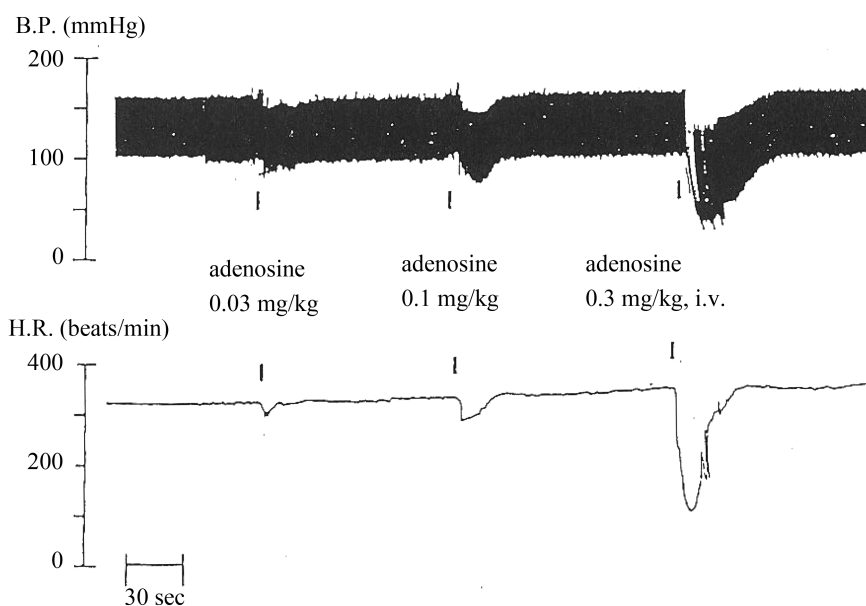


Fig. 1. Typical recording of blood pressure (B.P.) and heart rate (H.R.) changes induced by adenosine in the anesthetized rats.

Table 1. Effect of nitrobenzylthioinosine (NBI) or 8-phenyltheophylline pretreatment on the decrease in mean blood pressure (left) and the negative chronotropic action (right) of adenosine in the anesthetized rats.

| Pretreatment | Adenosine (mg/kg, i.v.) | | | | | |
|---------------------------------------|---------------------------|------------------------------|---------------------------|------------------------------|---------------------------|------------------------------|
| | 0.01 | | 0.1 | | 0.3 | |
| | Δ M.B.P. (mmHg) | Δ H.R. (beats/min) | Δ M.B.P. (mmHg) | Δ H.R. (beats/min) | Δ M.B.P. (mmHg) | Δ H.R. (beats/min) |
| Control | -13±2 | -20±1 | -27±3 | -73±6 | -73±4 | -240±15 |
| NBI (2 mg/kg, i.v.) | -20±3 | -50±6** | -42±5* | -85±10 | -94±12 | -275±34 |
| 8-phenyl theophylline (10 mg/kg i.v.) | -6±1* | -5±1* | -13±2* | -15±2*** | -35±4** | -190±21 |

Δ represents "the change of". Results are expressed as a mean±S.E., n=6. * P<0.05, ** p<0.01, *** p<0.001 vs control.

이였으며, 심박수의 감소는 5±1, 15±2, 190±21 beats/min로 대조군에 비해 유의성 있게 억제되었다. 이러한 결과는 adenosine의 혈압강하 및 심박수 감소가 adenosine 수용체를 매개로 초래되었음을 제시해준다. 즉, adenosine A1 효능약이 용량의존적으로 서맥과 저혈압을 초래하였으며, 또한 고용량시 서맥은 보다 지속적으로 나타났다는 기 보고와 일치한다.¹⁶⁾

적출 우심방에서의 수축력 및 심박수 변화

Organ bath 내에 현수한 흰쥐 적출 우심방에 adenosine을 처치시 수축력 및 심박수의 감소를 초래하였다(Fig. 2).

즉, adenosine 3×10^{-7} , 3×10^{-6} , 3×10^{-5} M의 농도로 처치시 수축력은 각각 16±2, 28±3, 71±4% 억제되었으며, 심박수는

각각 6±1, 18±6, 50±15% 억제되어 농도 의존적인 반응을 나타내었다(Table 2).

이러한 organ bath 내에서 adenosine의 반응은 앞의 생체 내 혈압반응에 비해 보다 지속적인 반응을 나타내었으며, 이것은 생체내와는 달리 organ bath 내에는 adenosine을 분해시키는 adenosine deaminase 등의 분해효소가 없기 때문으로 고려된다.

한편, adenosine 재흡수 억제제인 NBI (10^{-6} M)의 전처치 후 adenosine을 다시 처치시 수축력의 억제는 22±2, 42±5, 75±7%로 심박수의 억제는 8±2, 30±3, 60±7%로 대조군에 비해 증가되는 경향을 나타내었으나 유의성은 없었다. 반면에, adenosine 길항약인 8-phenyltheophylline 10^{-5} M을 전처치 한 후 adenosine을 다시 처치시 수축력의 억제는 11±1,

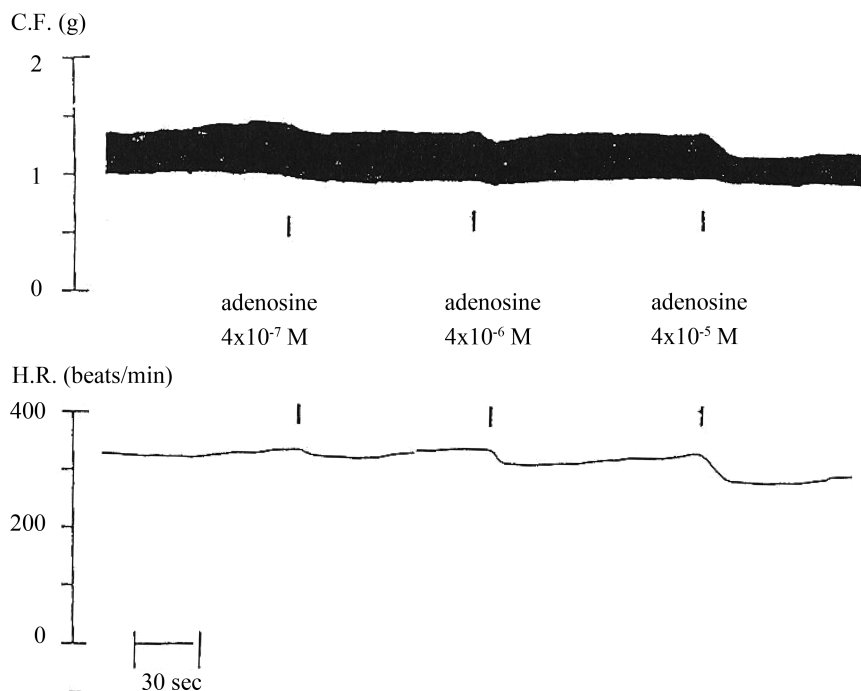


Fig. 2. Typical recording of contractile force (C.F.) and heart rate (H.R.) changes induced by adenosine in the isolated spontaneously beating right atria.

Table 2. Effect of nitrobenzylthioinosine (NBI) or 8-phenyltheophylline pretreatment on the negative inotropic (C.F.) and chronotropic (H.R.) action of adenosine in the isolated spontaneously beating rat right atria.

| Pretreatment | Adenosine (M) | | | | | |
|-------------------------------------|--------------------|-------------------|--------------------|-------------------|--------------------|-------------------|
| | 3×10^{-7} | | 3×10^{-6} | | 3×10^{-5} | |
| | Δ C.F. (%) | Δ H.R. (%) | Δ C.F. (%) | Δ H.R. (%) | Δ C.F. (%) | Δ H.R. (%) |
| Control | -16±2 | -6±1 | -28±3 | -18±6 | -71±4 | -50±15 |
| NBI(10^{-6} M) | -22±2 | -8±2 | -42±5 | -30±3 | -75±7 | -60±7 |
| 8-phenyl theophylline(10^{-6} M) | -11±1 | -3±0 | -17±3 | -4±1* | -44±5** | -14±2** |

Δ represents "the change of". Results are expressed as a mean±S.E., n=6. * P<0.05, ** p<0.01 vs control.

17±3, 44±5%로 심박수의 억제는 3±0, 4±1, 14±2%로 유의성 있는 감소를 나타내었다. 이 결과는 adenosine의 심장에 대한 억제효과가 adenosine 길항약(8-phenyltheophylline) 으로는 감소되고, adenosine uptake 저해제(NBI) 로는 증가되는 마취된 흰쥐에서의 혈압반응 실험결과와 유사하다.

Adenosine 대신에 A1 효능약인 CHA를 3×10^{-10} , 1×10^{-9} , 3×10^{-9} , 1×10^{-8} M 농도로 처치시 수축력은 32, 38, 55, 75%로 억제되었으며, 심박수는 5, 14, 38, 60% 억제되었다. 또한, adenosine 길항약인 8-phenyltheophylline 10^{-5} M의 전처치 후 CHA를 재투여시 수축력의 억제는 17, 30, 38, 47%로, 심박수의 억제는 2, 4, 9, 12%로 억제효과가 유의성 있게 차단되었다. 이러한 결과는 adenosine이 심장에 존재하는 A1 수용체에 대한 효능작용으로 우심방의 수축력과 심박수를 억제하였음을 의미한다.

Adenosine의 심장에서의 작용기전은 심방과 심실에서 서로 다르다. 즉, 심방의 동방결절에서는 A1 수용체에 작용하여 세포밖으로 K⁺의 유출을 증가시킴으로써 활동전위의 지속시간을 단축시키고 과분극을 초래하여 심박수의 감소를 직접적으로 가져올 뿐만 아니라, 교감신경 흥분을 억제하는 간접적인 항 adrenaline 작용도 지너 서맥을 초래한다. 반면에, 심근세포에서는 직접적인 수축력의 억제 효과는 없이 β -효능약 등의 자극으로 활성화된 adenylate cyclase를 억제하여 cAMP 감소를 통해 Ca⁺⁺ channel의 억제로 수축력이 저하하는 간접적인 작용만을 지닌다.⁸⁾

흰쥐의 혈관반응

정상 흰쥐의 흉곽대동맥에서 adenosine은 농도 의존적으로 이완반응을 초래하였으며, 내피세포 제거시에도 대조군과 유

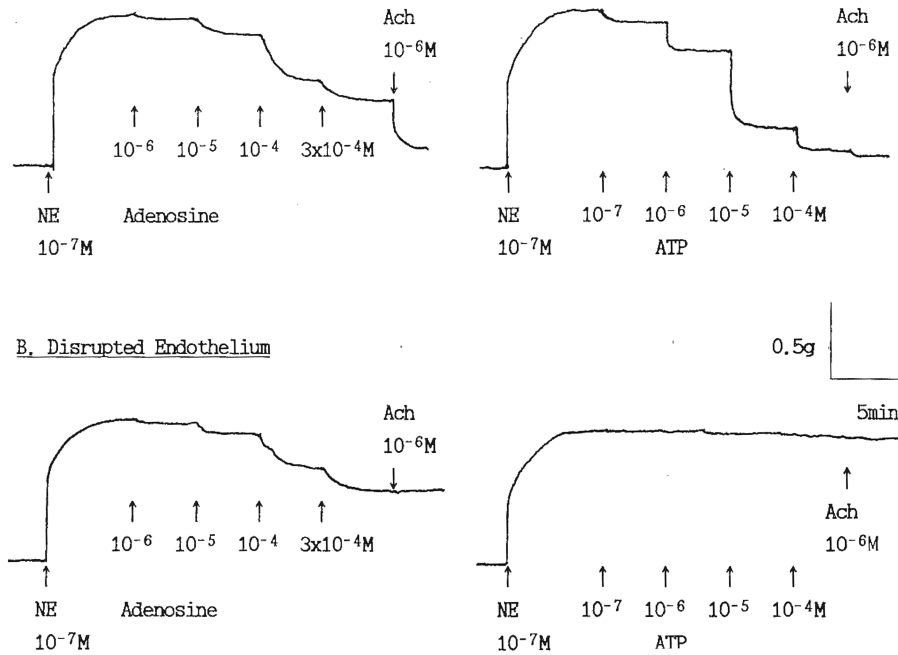


Fig. 3. Typical recording of vasorelaxation induced by adenosine (left) or ATP (right) in the isolated normotensive rat thoracic aorta with intact endothelium (upper) and disrupted endothelium (lower). All thoracic aortas were precontracted with norepinephrine 10^{-7} M. The presence of intact endothelium were confirmed by the acetylcholine-induced vasorelaxation. Similar experiments were obtained from an additional 6 thoracic aortas.

Table 3. Effect of L-NAME, which is a NO inhibitor, on the adenosine or ATP-induced vasorelaxation in the isolated normotensive rat thoracic aorta with intact endothelium. And, vasorelaxation induced by adenosine or ATP in the isolated spontaneously hypertensive rat (SHR), compared with normal rat, thoracic aorta with intact endothelium. Results are expressed as a mean±S.E., n=6. ** p<0.01, * p<0.001 vs normal rat.**

| Thoracic Aorta | | Adenosine (10 ⁻⁴ M) | ATP (10 ⁻⁴ M) |
|----------------|--|--------------------------------|--------------------------|
| Normal Rat | intact endothelium | 42.3±8.7% | 85.9±15.8% |
| | disrupted endothelium | 35.2±1.9% | 11.3±9.0%*** |
| | L-NAME (10 ⁻⁶ M) pretreatment | 35.1±1.8% | 15.4±10.0%** |
| SHR | intact endothelium | 35.1±5.3% | 19.6±4.0%*** |

사한 이완반응을 나타내었다(Fig. 3).

즉, 정상 흰쥐의 흉곽대동맥에서 내피세포가 존재할 때 adenosine은 10⁻⁴ M에서 42.3±8.7% 이완반응을 나타내었으며, 내피가 제거되었을때 10⁻⁴ M에서 35.2±1.9%의 이완반응을 나타내어 유의성 있는 차이가 없었다(Table 3). 이것은 adenosine이 내피세포 비의존성 이완반응을 초래한다는 것을 제시한다.

이를 보다 확인하고자, 내피세포에서 NO 생성을 억제하는 NAME을 전처치해 보았다. L-NAME (10⁻⁶ M)을 전처치시에도 adenosine은 10⁻⁴ M에서 35.1±1.8% 혈관 이완반응을 나타내므로서 대조군에 비해 유의성 있는 차이가 없었다. 또한, 선천성 고혈압 흰쥐의 흉곽 대동맥에도 adenosine은 10⁻⁴ M에서 35.1±5.3% 이완반응을 초래하므로서 정상 흰쥐에 비해

유의성 있는 차이가 없었다. 선천성 고혈압 흰쥐의 혈관은 약물반응에 있어서 정상쥐의 혈관과는 다르다고 보고 되어져 왔다. 본 연구에서도 내피세포 의존성 이완물질인 acetylcholine 10⁻⁶ M의 경우 정상 흰쥐의 흉곽 대동맥에서 88%의 이완반응을 초래하는데 반해, 선천성 고혈압 흰쥐의 경우에는 52%의 이완반응을 초래하므로서 내피세포가 일부 손상되었음을 알 수 있었다. 이러한 결과는 adenosine이 내피세포가 아니라 평활근에 직접 작용하므로서 내피세포 비의존성 이완반응을 초래함을 의미한다.

반면에, ATP에 의한 이완반응은 adenosine에 비해 신속하게 나타났으며, 최대반응도 컸다(Fig. 3). 또한, 내피세포 제거 시에는 이완반응이 억제되므로서 adenosine과는 달리 내피세포 의존성 이완반응을 나타내었다. ATP는 정상 흰쥐의 흉곽 대동맥에서 내피세포가 존재할 때 10⁻⁴ M에서 85.9±15.8 이완반응을 나타내었으나, 내피가 제거되었을때 10⁻⁴ M에서 11.3±9.0%의 이완반응을 나타내어 유의성 있게 억제되었다(Table 3). 또한, L-NAME 10⁻⁶ M을 전처치시 ATP는 10⁻⁴ M에서 15.4±10.0 이완반응을 나타내므로서 대조군에 비해 유의성 있게 억제되었으며, 내피가 일부 손상된 선천성 고혈압 흰쥐의 흉곽대동맥에도 ATP는 10⁻⁴ M에서 19.6±4.0 이완반응을 초래하므로서 정상 흰쥐에 비해 유의성 있게 억제되었다. 이러한 결과는 ATP의 이완반응이 adenosine 과는 달리 내피세포 의존성 이완반응으로서 내피세포에 존재하는 P2(ATP) 수용체에 대한 효능작용으로 초래된다는 보고와 일치한다.¹⁹⁾ 또한, 이 결과는 앞의 Fig. 3에서와 일치되게 adenosine은 정상 흰쥐의 흉곽대동맥에서 내피세포 비의존성 이완반응을 초래하는 반면에 ATP는 내피세포 의존성 이완반응을 초래하며 이때 이완반응은 NO의 유리에 기인된다는 것을 의미한다. 즉, 정상 흰쥐 적출 흉곽대동맥에서 adenosine과

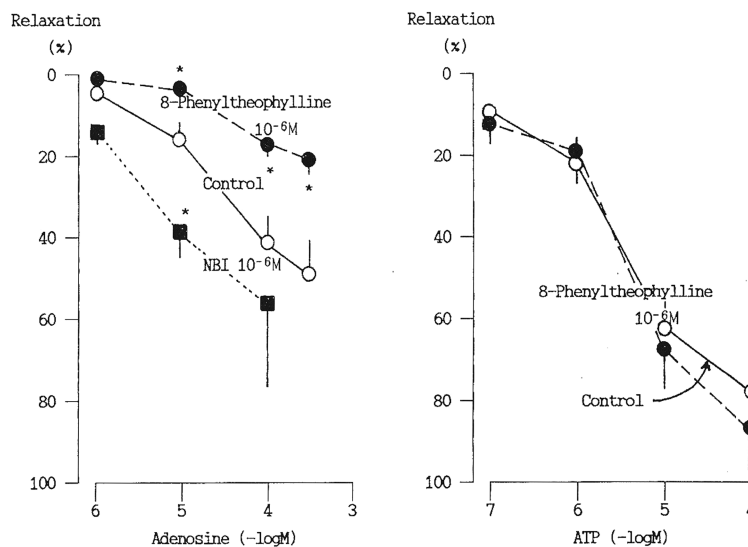


Fig. 4. Effects of 8-phenyltheophylline, which is an adenosine antagonist, or nitrobenzylthioinosine (NBI), which is an adenosine transport inhibitor, on the adenosine (left) and ATP (right)-induced vasorelaxation in the isolated normotensive rat thoracic aorta with intact endothelium. Results are expressed as a mean±S.E., n=6. * P<0.05 vs control.

ATP는 세포내에서 상호 전환되어 생리적인 작용을 나타내지 않고, 서로 다른 부위에 각각의 작용점 즉, 수용체를 갖고 혈관 이완반응을 나타낸다는 것을 제시해준다. 한편, 정상흰쥐의 흉곽대동맥에서 내피세포가 존재할 때 adenosine의 이완반응은 adenosine 길항약인 8-phenyltheophylline 10^{-6} M 전처치시 유의성 있게 억제되었다(Fig. 4).

반면에, adenosine의 세포내 유입을 억제하는 NBI 10^{-6} M 전처치시 adenosine에 의한 이완반응은 10^{-6} M에서 $15.6 \pm 2.6\%$, 10^{-5} M에서 $39.8 \pm 15.0\%$, 10^{-4} M에서 $50.5 \pm 19.8\%$ 로 각각 이완반응이 반응이 대조군에 비해 증가되었다. Adenosine은 세포외에서 AMP의 분해로 인하여 생성되나, 세포질내에서는 adenosine deaminase에 의해 inosine이 되거나 adenosine kinase에 의해 다시 AMP로 전환될 수 있다.¹⁷⁾ 따라서 adenosine의 세포내 유입을 억제하는 NBI의 전처치시 adenosine의 혈관 이완반응이 좀 더 증가된 것으로 고려된다. 반면에, ATP에 의한 혈관 이완반응은 NBI 및 8-phenyltheophylline의 전처치에 의해 영향이 없었다.

정상 흰쥐의 흉곽대동맥에서 A1 adenosine 수용체 효능약인 CHA를 10^{-5} M 농도까지 단독투여시 이완반응을 초래하지 않았으나, A1 및 A2 adenosine 수용체 효능약인 NECA의 단독투여시 10^{-4} M에서 $76.8 \pm 13.1\%$ 로 최대 이완반응을 초래했다. 이러한 결과는 adenosine에 의한 이완반응이 혈관 평활근 세포막에 존재하는 A2 수용체에 대한 효능작용을 초래된다는 것을 제시 해 주며, 혈관 평활근 이완에 작용하는 A2 adenosine 수용체는 CHA보다 NECA에 대해 특이성을 갖고 있다고 보고와 일치된다.¹⁸⁾ 즉, adenosine은 혈관 평활근에 존재하는 A2 수용체에 작용하여 cAMP를 상승시켜 이완작용을 일으키는데 반하여, ATP는 혈관 내피세포에 존재하는 P2 수용체에 작용하여 NO를 유리시키고 혈관 평활근의 cGMP를 상승시켜 이완반응을 초래한다.

결 론

마취된 흰쥐에게 adenosine을 정맥주사시 용량 의존적으로 일시적인 혈압 및 심박수의 감소를 초래하였다. 이러한 adenosine의 혈압강하 효과는 adenosine의 세포내 uptake를 차단하는 NBI의 전처치에 의해 증가되었으며, adenosine 수용체 차단작용을 지닌 theophylline의 전처치에 의해 감소되었다. 또한, 적출 우심방의 자발적인 운동에 있어 adenosine 및 adenosine A1 효능약인 CHA를 투여시 수축력 및 심박수의 지속적인 억제를 나타내었다. 이러한 adenosine의 심장 억제 효과는 역시 NBI의 전처치에 의해 증가되었으며, theophylline의 전처치에 의해 감소되었다. 이러한 결과는 adenosine에 의한 심장 억제효과는 심근 세포막에 존재하는 adenosine A1 수용체의 효능작용에 기인된 것임을 제시한다. 한편, organ bath 내에 적출 현수한 정상 흰쥐의 흉곽대동맥에 있어 adenosine은 용량 의존적으로 혈관 이완반응을 초래

하였으며, 내피세포 제거시에도 역시 유사한 혈관 이완반응을 초래하였다. 이러한 adenosine의 혈관이완반응은 NO 생성 억제제인 L-NAME 전처치시에도 유사하게 초래되므로서 내피세포 비의존성 이완반응임을 나타내었다. 또한 내피세포가 일부 손상된 선천성 고혈압 흰쥐 (SHR)의 흉곽대동맥에서도 adenosine은 정상 흰쥐에서와 유사한 혈관 이완반응을 나타내었다. 이러한 adenosine의 혈관 이완반응은 NBI 전처치시 증가되었으나, adenosine 수용체 길항약인 8-phenyltheophylline의 전처치시 억제되었다. 또한, A1수용체 효능약인 CHA는 이완반응을 초래하지 않으나, A2 수용체 효능약인 NECA의 경우에는 adenosine과 유사한 이완반응을 초래하였다. 이러한 결과는 adenosine에 의한 혈관 이완반응이 혈관 평활근 세포막에 존재하는 adenosine A2 수용체의 효능작용에 기인된 것임을 제시한다. 또한 adenosine의 직접적인 혈관확장 및 심장억제 효과는 임상적으로 관상혈관의 폐쇄에 의한 허혈성 심질환 치료에 응급시 사용될 수 있음을 제시해 준다.

감사의 말씀

이 논문은 2009년도 동덕여자대학교 학술연구비 지원에 의하여 수행된 것임.

참고문헌

1. Tasatargil A, Sadan G, Karasu E, Ozdem S. Changes in atrium and thoracic aorta reactivity to adenosinergic and adrenergic agonists in experimental hyperhomocysteinemia. *J Cardiovasc Pharmacol* 2006; 47(5): 673-9.
2. Urmallya VB, Pouton CW, Devine SM, Haynes JM, Warfe L, Scammells PJ, White PJ. A novel highly selective adenosine A1 receptor agonist VCP28 reduces ischemia injury in a cardiac cell line and ischemia-reperfusion injury in isolated rat hearts at concentrations that do not affect heart rate. *J cardiovasc Pharmacol* 2010; 56(3): 282-92.
3. Bumstock, G A basis of distinguishing two types of purinergic receptors, In: Bolis L, Straub RW, eds. *Cell Membrane Receptors for Drugs and Hormones*. New York, Raven, 1978; 107-11.
4. Londos D, Cooper DMF, Schlegel W. Adenosine analog inhibit adipocyte adenylate cyclase by a GTP-dependent process: Basis for action of adenosine and methylxanthines of cyclic AMP productions and lipolysis. *Proc Natl Acad Sci USA* 1978; 75, 5362-67.
5. Van Calker D, Muller M, Hamprecht B, Adenosine regulates, via two different types of receptor, the accumulation of cyclic AMP in cultured cells. *J Neurochem* 1979; 33, 999-1006.

6. Mustafa SJ, Morrison RR, Teng B, Pelleg A. Adenosine receptors and the heart: role in regulation of coronary blood flow and cardiac electrophysiology. *Handb Exp Pharmacol* 2009; 193: 161-88.
7. Tikh EI, Fenton RA, Dobson JG Jr. Contractile effects of adenosine A1 and A2A receptors in isolated hearts. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2006; 290(1): H348-56.
8. Belardinelli L, Linden J, Berne R. The cardiac effects of adenosine. *Prog Cardiovasc Dis* 1989; 32, 73-9.
9. Sato A, Terata K, Miura H, Toyama K, Loberiza FR Jr, Hatoum OA, Saito T, Sakuma I, Guterman DD. Mechanism of vasodilation to adenosine in coronary arterioles from patients with heart disease. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2005; 288(4): H1633-40.
10. Teng B, Ledent C, Mustafa SJ. Up-regulation of A_{2B} adenosine receptor in A_{2A} adenosine receptor knockout mouse coronary artery. *J Mol Cell Cardiol* 2008; 44(5): 905-14.
11. Nakazawa T, Mori A, Saito M, Sakamoto K, Nakahara T, Ishii K. Vasodilator effects of adenosine on retinal arterioles in streptozotocin-induced diabetic rats. *Naunyn Schmiedergs Arch Pharmacol* 2008; 376(6): 423-30.
12. Gordon JL, Martin W. Endothelium-dependant relaxation of the pig aorta : relationship to stimulation of Rb efflux from isolated endothelial cells. *Br pharmacol* 1983; 79: 531-541.
13. Fruchgott RF. In: Vanhoutte PM, ed. Mechanism of vasodilators. New York: Raven Press, 1988; 401-414.
14. Ignarro LJ, Buga GM, Wood KS, Byrns RE, Chaudhuri G. Endothelium derived relaxing factor produced and releases from artery and vein is nitric oxide. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987; 84: 9265-9.
15. Jenner TL, RoseMeyer RB. Adenosine A₃ receptor mediated coronary vasodilation in the rat heart: changes that occur with maturation. *Mech Ageing Dev* 2006; 127(3): 264-73.
16. Honey AC, Bland-Ward PA, Conner HE, Fenluk W, Humphrey PP. Study of an adenosine A₁ receptor agonist on trigeminally evoked dural blood vessel dilation in the anaesthetized rat. *Cephalalgia* 2002; 22(4): 260-4.
17. Hocher B. Adenosine A₁ receptor antagonists in clinical research and development 2010; 78(5): 438-45.
18. Paterson ARP, Lau EY, Dahli E, Cass CE. A common basis for inhibition of nucleoside transport by dipyridmole and nitrobenzylthioinosine. *Mol Pharmacol* 1980; 18: 40-8.
19. Harrington LS, Evans RJ, Wray J, Norling L, Swales KE, Vial C, Ali F, Carrier MJ, Mitchell JA. Purinergic 2X₁ receptors mediate endothelial dependent vasodilation to ATP. *Mol Pharmacol* 2007; 72(5): 1132-6.