

# Heterogeneity of Endothelium-derived Relaxing Factor

홍 기 환

부산대학교 의과대학 약리학교실

내피세포 (endothelial cells, EC)는 amine, peptide, 단백질, arachidonic acid 및 그 대사물 등의 여러 화학물질에 의하여 내피세포 의존성 이완물질 (endothelium-derived relaxing factor, EDRF)을 유리할 뿐만 아니라 맥압(脈壓)과 같은 물리적 변동에 의해서도 EDRF가 유리된다. EDRF는 처음에 Furchgott와 Zawadzki (1980)에 의하여 보고되었고, EDRF의 실질적인 성분이 무엇인가에 대하여는 그동안 많이 검토되어 왔다(Marshall 와 Kontos, Hong 등, 1990). Ignarro 등 (1987)과 Palmer 등 (1987)은 EDRF에 의한 생물학적 반응이 NO (nitric oxide)와 유사하거나 같은 물질이라고 보고하였고, Furchgott 등 (1986)과 Ignarro 등 (1988)도 EDRF가 NO와 유사하거나 같은 물질일 것이라고 단정하였다.

NO는 L-arginine을 기질로 하여 (Palmer 등, 1988; Sakuma 등, 1988) dioxygenase (No synthase: NOS)에 의하여 합성된다는 사실도 증명되었다(Stuehr 등, 1991). NO의 생합성에 관여하는 NOS의 isoform은 여러 개 있다. 그중 현재로서는 두가지 형에 대해서만 상세히 연구되고 있다. 하나는 중추신경의 소뇌 신경세포 (Bred와 Snyder 등, 1990)나 내피세포에 있는 구조성 (constitutive) NOS와 거대세포(Stuehr 등, 1991), 백혈구 (McCall 등, 1989), 혈관평활근 세포(Busse와 Mülsch, 1990) 및 내피세포 (Radomski 등, 1990)에 주로 존재하는 유도성 (inducible) NOS가 있다. 전자는 calcium과 calmodulin 의존성이고 NO의 생성률이 낮은 편이나 유도성 NOS 효소는 세균성 내독소인 LPS나 cytokine (TNF와 IL-1 $\beta$ )에 의하여 유도되는 것으로 알려져 있다. 유도성 NOS는 특징적으로 glucocorticoid인 dexamethasone에 의하여 억제된다 (Moncada 등, 1991). 이 두 NOS를 억제하는 물질로서는 NOS의 기질인 L-arginine의 치환유도체인 N<sup>6</sup>-monomethyl-L-arginine(L-NMMA), N<sup>6</sup>-nitro-L-arginine(L-NNA) 그리고 N<sup>6</sup>-nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME) 등이다.

일찌기 Kuriyama와 Suzuki (1978)는 토끼 상장간막 동맥의 평활근에서 acetylcholine이 세포막의 과분극을 일으킨다고 보고한 이후 Bolton 등 (1984)은 혈관의 내피세포를 제거한 뒤로는 이 과분극이 탈분극으로 전환하는 사실을 발견하고 내피세포에서 과분극을 일으키는 물질이 유리된다고 하였다. 그 후 Komori 등 (1988)

과 Chen 등 (1988)은 methylene blue나 hemoglobin이 acetylcholine에 의한 내피세포 의존성 근이완을 억제하지만 막 과분극은 방지하지 못한다는 점에서 체액성 과분극성 인자가 유리된다는 사실을 증명하였다. 한편, 돼지 관상동맥에서 bradykinin에 의하여 이완과 과분극이 야기되었고, 이는 L-NNA에 의하여 억제되지 아니한다는 사실을 Nagao와 Vanhoutte(1992)가 보고하였다. 이와같은 L-NNA에 저항하는 근이완은 내피세포에서 유래된 막 과분극 인자에 기인하고 막 과분극의 기전으로서는 K<sup>+</sup>통로의 개방이 관여한다고 Olesen 등 (1988)이 증명하였다. 따라서 EDRF의 주물질은 NO이외에도 내피세포 의존성 막과분극성 물질 (endothelium-dependent hyperpolarizing factor, EDHF)도 유리된다고 할 수 있다(Komori와 Vanhoutte,1990). 이 EDHF에 의한 근이완은 혈관 평활근 세포의 K<sup>+</sup> conductance의 증가(chen 등, 1988)로 인한 막과분극성에 기인한다(Komori와 Vanhoutte,1990)고 하나 EDHF는 작용이 일과성이라는 사실 이외에는 생리학적 역할, 또는 EDNO와의 관계가 무엇인지도 모를 뿐 아니라 그 정체를 파악하지 못하고 있다. 최근에 Garland와 McPherson (1992), Krippeit-Drewo 등 (1992) 및 Tare 등 (1990)은 NO가 조직에 따라 다르긴 하지만 (개 장간막 동맥이나 돼지 관상동맥은 예외) 혈관 평활근의 막과분극을 동반하여 근이완을 일으킨다고 하였고, acetylcholine에 대한 내피세포 의존성 막과분극작용을 일으킴에 있어서 NO가 관여할 것이라고 한바 있다.

EDRF는 free NO라는 사실에 대하여 많은 학자들은 의견이 일치하지 않고 있다. EDRF는 NO와 매우 밀접한 (Loeb와 peach,1990),또는 NO를 유리하는 안정된 전구물질로서 nitrosocysteine에 가까운 물질일 것이라고 주장하기도 한다 (Cocks와 Angus, 1989; Rubanyi등, 1990). EDHF의 정체도 파악하기가 쉽지 않은 것은 K<sup>+</sup> 탈분극 용액 이외에는 아직 EDHF를 억제하는 특이한 약물이 개발되지 않고 있고, 내피세포가 견제된 흰쥐 장간막 동맥에서 acetylcholine의 이완작용이나 돼지 관상 동맥에서 bradykinin에 의한 이완작용이 NOS 억제제인 몇몇 L-arginine 유도체에 의하여 봉쇄되지 않고, 단지 K<sup>+</sup> 탈분극 용액에서만 이들 이완작용이 소실되는 점에서 EDHF를 논하고 있기 때문에 EDHF의 정체는 아직 모르는 상태이다. 실제 EDRF에 관한 많은 연구는 *in vitro* 실험결과들이 많고 특히 배양 내피세포를 사용한 실험결과들이 많다. 이들 배양세포는 *in vivo* 상태와 다른 점은 세포가 가지고 있는 효소학적 발달상태와 수용체의 형성이 충분히 분화되지 않은 상태이고 (Elder,1983), 과다한 산소를 가진 환경에서 비록 안전상태라 하더라도 superoxide 유리기를 생산하게 된다(Forsterman, 등, 1985). Oxygen radical은EDRF를 파괴할 뿐만 아니라 오히려 혈관수축을 유도한다

(Katusic과 Vanhoutte, 1989). 그런가하면 NO 생성에는 oxygen radical(superoxide나  $H_2O_2$ )이 permissive role (Mittal, 1993)을 한다는 최근의 보고도 있어 매우 복잡하다.

본 연자는 최근에 내피세포가 superoxide(효소학적 또는 전기자극에 의하여 생성되는)에 노출되면 prostaglandin과는 다르게 cyclic GMP 생성의 증가와는 무관한 stable EDRF가 유리되어 근이완을 일으킨다는 사실 (Hong 등, 1989)을 확인하여 보고한 바 있다. 즉, hypoxanthine-xanthine oxidase나 전기자극에 의하여 생성된 superoxide와 내피세포가 반응케하고 일정시간이 지난 후에 이를 수축된 고양이 기저 동맥에 가하였을 때 근긴장은 감소하였다. 이 용액 내에 superoxide dismutase를 전처리하였을 때는 이완이 소실하였으나, catalase, mannitol, DMSO 및 indomethacin을 전처리하는 영향을 받지 아니하였다. 결론적으로 내피세포에 superoxide가 작용하면 EDNO와는 다른 stable EDRF가 유리된다고 사료된다