

## 흰쥐 적출대동맥의 수축력에 미치는 열과 NaCl의 영향

박태규\*, 김종일, 성유진, 김인점, 김중영

경북대학교 의과대학 의학과 약리학교실

### ABSTRACT

In this study, in order to examine whether salt and heat shock stress would alter or not contraction and relaxation of isolated rat aorta. Under anesthesia with sodium pentobarbital(50 mg Kg<sup>-1</sup> i.p.), male Sprague Dawley rats weighing 300-330 g were subjected to 0, heat shock combined salt stress, where as the sham group was left at modified Krebs-bicarbonate solution. To measure contractile response of vascular ring preparation isolated from rat was determined in organ bath and was recorded on physiograph connected to isometric transducer. And the strip was checked for expression of heat shock protein(Hsps) by means of western blotting. The combination group of heat and 50 mM NaCl group increased vasculat contractility, and the heat and 150 mM NaCl group decreased vascular contractility for 5 hours, and then recovered for 8 hours compared to that of control. Expressin of Hsp 70 of vascular muscle of rat aorta more increased by combination of heat and NaCl treatment than those of single treatment of heat or NaCl treatment, and vascular Hsp 70 showed a little decrease at 8 hours compared at 5 hours. These result indicate that mixed environmental stress either increased or decreased in vascular contractility by combination of heat and NaCl concentration.

### I. 서 론

고염식은 고혈압 유발과 관련이 있는 것으로 알려져 있어(Victor 등, 1986; Muntzel과 Druke, 1992; Fotherby와 Potter, 1993), 장기간에 걸친 염분섭취는 내피기능의 장애를 유발시켜 혈압 상승의 일부 요인이 되기도 하는데, 일반인보다는 비교적 염에 민감한 사람들에게 고혈압으로 진행될 위험성이 커지게 된다(Houston, 1986; Tobian, 1991; Kuller, 1997; Nurminen 등, 1998; Bragulat와 de la Sierra, 2002).

한편 고염식은 세포의 Na를 증가시키지만, 이런 Na 증가가 혈관수축을 초래하고 혈압을 상승시키는지는 분명하지 않다고 하여(Brown 등, 1971, Fang 등, 2000), 고염 섭취가 고혈압을 유발시키는지와 염분섭취에 의한 고혈압의 발생기작을 밝혀 내지 못하고 있다(Maxwell과 Wak, 1987; Kurokawa, 2001).

열자극(Kim 등, 1999)에 노출되면서 체내 스트레스가 가해지면, 외부 스트레스를 방어하기 위해 생체 내에서는 열자극단백질(heat shock protein, Hsp)이 생성되게 된다(Sorger, 1991; Benjamin과 McMillan, 1998). Hsp는 세포에서 단백질 접힘, 이동 및 단백질 재구성에 관여하고(Becker와 Craig, 1994), 세포교정, 다른 외부 환경 스트레스에 대해 세포보호 기능을 하게된다(Skowyrá 등, 1990).

이에 본 연구에서는 열자극과 NaCl을 복합처리 하였을 때 혈관 수축의 변화과정과 Hsp 발현양상을 검토하고자 하였다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 흰쥐의 적출 대동맥실험

pentobarital sodium(35 mg/kg)으로 마취시킨 흰쥐의 흉부대동맥을 적출하 modified Kreb's solution 속에서 4 mm 길이로 잘라 고리절편을 만들어 steel triangle에 걸어 Magnus 관내의 modified Kreb's solution에 현수시키고, 혼합가스(95% O<sub>2</sub>, 5% CO<sub>2</sub>)를 공급하면서 pH는 7.4로, 온도는 37°C로 유지시켜 실험을 실시하였다.

열과 NaCl처리는 열자극(42°C, 60분)과 NaCl(50 mM 또는 150 mM, 60분)을 처리한 후 1, 3, 5 및 8시간 뒤에 수축제에 대한 혈관의 반응을 측정하였다.

현수시킨 혈관에 25 mM, 50 mM 및 75 mM KCl과 10<sup>-9</sup>~10<sup>-5.5</sup> M의 phenylephrine을 첨가하여 나타나는 혈관의 수축력을 측정하였다.

### 2. Western blotting에 의한 Hsp의 발현

열자극과 NaCl처리에 따른 열자극단백질(Hsps)의 발현을 조사하기 위하여 western blotting을 실시하였다. 항체는 Hsp 70(heat shock protein, 1:1,000, Sigma, St. Louis, MO, USA)와 horse-radish peroxidase 2차 항체(1:2,000,

Sigma, St. Louis, MO, USA)를 사용하였고, 단백질은 ECL (enhanced chemiluminescence) 반응으로 정량하였다.

### III. 결 과

#### 1. 흰쥐의 적출 혈관수축에 미치는 수축제의 반응

열자극과 50 mM 및 150 mM NaCl을 처리한 후 1, 3, 5 및 8시간이 경과한 후 25, 50 및 75 mM KCl을 처리했을 때 혈관 수축력은 처리 3시간, 5시간 및 8시간째 열자극과 50 mM NaCl 복합처리군은 열자극군에 비해 50 mM KCl에 의해 각각 4%, 9% 및 10% 증가된 수축력을 보였으나 열과 150 mM NaCl 복합처리시는 각각 31%, 25% 및 2.9% 감소된 값을 보여, 열자극과 50 mM NaCl 복합처리시는 10% 내외에서 수축력이 증가되었으나, 열자극과 150 mM NaCl 복합처리시는 처리 초기에 고농도 삼투에 의해 혈관수축력이 5시간까지 열자극군에 비해 30% 내외에서 억제되었고, 8시간째 대조군 수준으로 회복되어 열자극과 함께 NaCl 처리 농도에 따라 서로 다른 양상을 보였다.

혈관수축제 phenylephrine( $10^{-9}$ ~ $10^{-5.5}$  M)을 누적 처리했을 때 시간경과에 따른 혈관 수축력의 변화에서, 열자극과 50 mM NaCl 처리한 경우 열자극에 비해 5~14% 가량 증가된 수축력을 보였으나 열자극과 150 mM NaCl 복합처리 1시간째 34% 감소된 값이었고, 3시간과 5시간째에는 각각 19%와 9% 정도 감소되었으나 처리 8시간째에는 오히려 열자극군에 비해 14% 증가된 값을 보여 다른 양상을 나타내었다. 열자극과 NaCl처리시 혈관 대동맥의 수축력은 KCl 보다 phenylephrine에 의해 보다 증가된 혈관 수축력의 변화를 보여 주었다.

#### 2. Western blotting에 의한 Hsp 발현양상

열자극과 NaCl처리로 혈관의 수축과 이완실험을 끝낸 혈관을 SDS-PAGE 법으로 western blotting 정량한 단백질량의 변화에서 Hsp 70은 처리 3시간째에 발현되었고 50 mM NaCl 복합처리군에서 다소 높게 나타났으나 처리군간 유의적이지 않았다. 5시간째에 전 처리군에서 Hsp 70 생성이 촉진되었으며, 열자극과 50 mM과 150 mM NaCl 복합처리군은 다소 증가된 Hsp 70 형성을 보였다. 8시간째에는 5시간째에 비해 Hsp 70 생성이 다소 감소되었고, 대조군

과 NaCl 복합처리군간 차이를 나타내지 않았다.

#### IV. 고 찰

현대인의 식생활이 변화되면서 고염식으로 인한 고혈압 유발에 대한 문제가 관심을 끌게 되었는데, 고염식이 혈관의 수축력을 증가시키게 되는지, 열자극으로 인해 형성된 열자극단백질이 NaCl 복합처리시 NaCl 스트레스를 촉진하는지, 억제하는지에 대해 살펴 외부의 다양한 복합적인 스트레스가 심혈관계와 스트레스단백질의 발현에 미치는 영향을 조사하여 고혈압 유발과의 관계를 검토하고자 하였다.

본 연구의 적출 대동맥실험에서 열자극과 50 mM NaCl 복합처리군의 KCl과 phenylephrine에 의한 수축반응은 각각 10% 내외에서 증가된 수축력을 보였으나, 열자극과 150 mM NaCl 복합처리군은 복합처리 5시간까지 수축력이 30% 내외로 억제되다가 복합처리 8시간째 대조군 수준으로 회복되었다. 이는 높은 수축력을 보인 열자극과 NaCl 복합자극에 대해 비교적 50 mM NaCl 복합처리시는 혈관 수축력이 다소 증가되었으나(Neuhofer 등, 1999), 150 mM NaCl 복합처리시는 처리 초기에 열자극군에 비해 감소된 혈관 수축력을 보이다가 8시간 경과 후 회복되어 서로 다른 양상을 보였는데, 이는 삼투스트레스는 열자극이나 알콜스트레스에 저항하고(Pott, 1994), 저염처리는 혈관수축력을 증가시키지만, 지나친 고염처리는 ionic strength를 너무 증가시켜 오히려 phenylephrine의 혈관 수축력을 억제시킨다는 Barron 등(2002)의 보고와 일치되는 결과라 할 수 있다. KCl은 potential operated calcium channel을 통한 calcium 이온의 유입에 의해 혈관의 수축력을 증가시키게 되고(Hurwitz, 1986), phenylephrine은 아드레날린성  $\alpha$  수용체와 작용해서 세포내 저장 칼슘의 유리에 의해 혈관의 수축력을 증가시키게 된다.

적출 대동맥실험에서 수축제에 대한 본 실험에서 열자극과 NaCl 처리는 혈관 평활근의 수축력을 다소 증가시켰고, 스트레스단백질인 Hsp 발현양상에도 영향을 미친 것으로 나타났다. 열자극과 NaCl 복합처리시 단백질의 변화는 50 mM과 150 mM NaCl 단독처리시 3시간째 단백질이 형성되었고, 시간경과에 따라 Hsp 70 단백질형성이 증가되었으며, 처리 8시간째 150 mM NaCl 단

독처리군에서 증가되었으나 유의적이지 않았다. NaCl 처리에 비해 열자극으로 Hsp 형성과 혈관수축력이 현저하게 증가된 모습을 보여 열자극이 혈관수축력에 보다 심각하게 영향을 미치는 것으로 나타났다. 한편, *Bacillus* sp.는 열자극에 비해 NaCl 처리가 더 큰 스트레스로 작용하여(Browne과 Dowds, 2001) 상반된 결과를 나타내 종(species)에 따라 외부 스트레스에 대한 반응이 차이를 보였다.

열자극과 NaCl을 복합처리했을 때 열자극단백질의 발현은 NaCl 단독처리에 비해 다소 증가되었으나 NaCl 농도에 비례해서 증가되지 않았다. 열자극과 50 mM NaCl 복합처리군은 혈관수축력과 Hsps 유도도 다소간 촉진되었으나 (Neuhofler 등, 1999), 열자극과 150 mM NaCl 복합처리군은 오히려 수축력이 억제되었는데, 염분섭취는 혈관을 수축시키나 너무 높은 염분은 혈관수축을 억제시킨다(Godt 등, 1984)는 보고와 유사하게 열자극과 150 mM NaCl 복합처리시 열자극으로 생성된 Hsp가 연속된 NaCl 스트레스를 방어하여 Hsp 유도를 억제한 것으로 여겨진다. 또한 열자극이 Hsp를 유도하여 연속되는 알콜 자극의 피해를 감소시켰다는 보고(Nakamura 등, 1991)와 유사한 결과라 할 수 있다. 한편, 150 mM NaCl 단독처리는 ionic strength가 너무 높기 때문에 혈관수축력을 억제시키지만(Barron 등, 2002), 일정시간이 경과되면 열자극으로 형성된 Hsp가 세포보호작용을 통해 억제된 혈관수축력을 다소 회복시킬 수 있어(Minowada와 Welch, 1995) 열자극과 150 mM NaCl 처리시 어떤 기작으로 혈관 수축이 조절되는지와 열자극으로 생긴 Hsp가 연속된 NaCl 처리에 대해 어떤 기작으로 세포를 보호하고, 또 혈관 수축력을 조절하는지에 대한 추가적인 실험을 요한다고 할 수 있다.

## V. 결 론

외부에서 가해진 열자극과 NaCl 처리에 의한 스트레스가 흰쥐 대동맥에 미치는 영향을 조사하기 위해 Hsp의 발현과 대동맥의 수축력의 변화를 알아보고자 실험을 실시한 결과는 다음과 같다.

결과 50 mM NaCl 복합처리는 혈관수축력을 증가시켰으나 열과 150 mM N

aCl 복합처리는 5시간까지 감소되었고, 8시간째 대조군과 유사하게 회복되었다.

NaCl처리에 따른 열자극단백질의 발현양상은 Hsp 70의 경우 열자극과 50 mM NaCl 복합처리군은 열자극 단독처리보다 Hsp 70 형성이 다소 증가된 값이었으나, 열자극과 150 mM NaCl 복합처리군은 혈관 수축력과 Hsp 형성이 열자극 단독처리군에 비해 다소 억제되어 NaCl농도에 따라 다른 양상을 보였다.

이상의 결과에서 열과 50 mM NaCl 복합처리시 열자극단백질(Hsps)의 형성과 혈관수축력을 증가시켰으나, 열자극과 150 mM NaCl 복합처리는 혈관 수축력이 억제되었다. 이는 저염처리에 비해 고염에 의한 혈관자극과 열자극으로 형성된 Hsp가 서로 다를 가능성이 있고, 염처리가 열자극 스트레스를 변화시켜 수축력에 변화를 초래한 것으로 여겨진다.

### 참 고 문 헌

- Fang, Z., Carlson, S.H., Peng, N., and Wyss, J.M.. 2000. Circadian rhythm of plasma sodium is disrupted in spontaneously hypertensive rats fed a high-NaCl diet. *Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* 278: 1490-1495.
- Houston, M.C.. 1986. Sodium and hypertension: a review. *Arch Intern Med.* 146: 179-185.
- Victor, R., Morgan, D., Thoren, P., and Mark, A.. 1986. High salt diet sensitized cardiopulmonary baroreflexes in Dahl salt-resistant rats. *Hypertension* 8, SupplIII: II-21-II27.
- Muntzel, M., and Drueke, T.. 1992. A comprehensive review of the salt and blood pressure relationship. *Am J Hypertens* 5: 1S-42S.