

심근 세포내 칼슘 이온 활용도에 미치는 Vanadate의 효과

이 정 렬 · 김 우 겐**

- Abstract -

Effects of Vanadate on the intracellular Calcium ion activities in myocardial cells

Jeong Ryul Lee, M.D.*, and Woo Geum Kim, M.D.**

The effect of Vanadate on the isometric contraction, membrane potential and intracellular calcium ion activities of rabbit myocardial cells were investigated, using calcium selective microelectrode, filled with neutral calcium ion carrier, ETH-1001. The resting tension, the membrane potential and the intracellular calcium ion activities were recorded in normal Tyrode solution and compared with those in the contracture induced by 10 mM Vanadate.

The following results were obtained:

1. The dose-response relationship between the contraction of Vanadate and twitch tension showed near-maximum response in 5mM with no corresponding changes in action potential.
2. The resting tension increased up to the amplitude of a control twitch in 10mM Vanadate with resting membrane potential, hyperpolarized.
3. Increase in intracellular calcium ion activities preceded the contracture by 10mM Vanadate which were restored to the control level in accordance with a decrease of intracellular calcium ion activities.
4. The amplitude of contractures by 10mM Vanadate were 90-120% of the control twitch tension in which the intracellular calcium ion activities were increased about 70 times from p Ca, 7.1 in the control to p Ca, 5.8 in contractures.

서 론

공업제품으로 많이 사용되는 희귀 원소인 Vanadate의 +5가 산화물인 Vanadate 이온이 강력한 Na.K-ATPase의 억제제임이 알려진(Josepfsen and Cantley, Jr., 1977)이래로 Vanadium원소의 효과로

알려져 온 생식, 적혈구, 뼈조직 및 혈중 지방 대사에 대한 작용도 새로운 방향에서 해석이 시도되고 있다 (Aker et al., 1983).

이 Vanadium의 생물학적 효과는 산화 상태가 +5인 Vanadate이온이어야 하며, +4가인 Vanadyl 이온의 형태가 되면 세포 속으로 쉽게 침투할 수는 있으나 세포 속의 단백질이 붙어서 Na.K-ATPase의 억제 효과도 없어지는 것으로 생각된다(Phillips et al., 1983; Aker et al., 1983).

시약으로서의 ATP 중에 불순물로 섞인 미량으로도 Na.K-ATPase의 억제효과가 관찰되며 생리적 Mg⁺² 농도(1mM)에서 Na₃VO₄의 Na.K-ATPase에 대한 K1(최대 억제의 1/2 효과 농도)가 0.25mM 정도이어서 정상적 생리상태에서도 Na.K-ATPase의 활용도

* 국군 서울지구 병원 흉부외과
 * Department of Cardiovascular Surgery, Seoul District Hospital
 ** 서울대학교 의과대학 생리학교실
 ** Department of Physiology, College of Medicine, Seoul National University
 *** 본 논문은 1987년 서울대학교 의과대학 생리학교실에서 시행한 저자의 박사 학위 논문임.
 1988년 4월 2일 접수.

가 Vanadate에 의해 조절된다는 견해도 있다 (Cantley, Jr. et al., 1977).

Vanadate는 근육, 신장, 적혈구, 뇌, 전기 뱀장어 등의 여러 종과 조직에서 분리된 Na.K-ATPase의 억제제로서 작용하며 (Josephson and Cantley, Jr., 1977; Cantley, Jr. et al., 1978) 근육이나 지방 세포의 Adenylase cyclase에는 반대로 촉진적이고 (Schwabe et al., 1979) 신경에서는 Ca-ATPase를 억제함이 알려져 있다 (Dipolo et al., 1979).

세포 속 기구들에도 작용이 가능하여 평활근 세포에서 인산화된 Actin과 Myosin의 상호 작용을 억제하며 (Peterson, 1980) 적혈구 Ca-ATPase 및 Ascites 종양 세포의 다른 ATPase도 모두 억제함이 알려졌다 (Rossi et al., 1981; O'Neil et al., 1979) 일반적으로 Mg^{+2} , K^{+} 에 의해 그 효과가 촉진되고 Ca^{+2} , Epinephrine에 의해 그 효과가 반전되어 (O'Neil et al., 1979) 그 작용 기전으로 Phosphate결합 효소들에서 처럼 Na.K-ATPase의 Phosphate가 붙을 자리에 Vanadate가 결합해서 억제효과가 나타날 가능성을 시사하였다 (Cantley, Jr. et al., 1979).

Vanadate에 대한 Na.K-ATPase에 대한 억제 기전은 반드시 세포 안쪽에서만 가능하리라는 해석이며 (Cantley, Jr. et al., 1978; Akera et al., 1979) 정상 상태에서는 세포 밖에서 안으로의 침투가 불가능하며 +4가의 산화 상태인 상태에서는 세포 밖에서 안으로의 침투가 불가능하며 +4가의 산화 상태인 Vanadyl 이온 형태로나 세포 속으로의 침투가 가능하나 이 형태로는 Na.K-ATPase의 억제 효과가 없으며, 세포 속 단백질에 비특이적으로 결합되 버릴 것으로 생각되고 있다 (Phillips et al., 1983; Akera et al., 1983).

그러나 세포 밖에서도 Vanadate의 작용은 보고되고 있어서 고양이나 Guinea Pig의 심실 유두근에서 수축력 강화를 보이고 심방근에서는 반대로 수축력의 약화가 일어나 (Bochard et al., 1979) 그에 상응하는 활동 전압의 효과 외에 세포막 수준에서의 생리학적 분석이 요구된다.

따라서 집토끼 유두근에서 보고된 수축력 강화 현상 (김 등, 1985)이 세포 속 칼슘 이온의 활동도의 증, 감으로 직접 표현되는 것인지, 그 변화가 시간에 따라 어떻게 변화할 것인지, 또 가능한 기전은 무엇인지를 알아보기 위하여 본 실험에 착수하였다.

연구 재료 및 방법

체중 1-1.5kg의 집토끼를 암수 구별없이 사용하여 후두부를 강타하여 실신시킨 후 경동맥을 절단하여 실험시켰다. 토끼의 흉강을 열고 심장을 적출하여 100% 산소로 포화된 HEPES-완충 Tyrode용액 [Na^{+} ; 158 mM, K^{+} ; 4 mM, Ca^{+2} ; 2 mM, Mg^{+2} ; 1 mM, Cl^{-} ; 168 mM, Glucose; 5.5 mM, HEPES(N-2-hydroxyethylpiperazine-N'-2-ethanesulfonic acid); 5 mM, PH; 7.4]이 들어있는 준비 용기로 옮겼다. 우심실이 위쪽으로 오게하여 준비용기에 편으로 고정하였다. 좌, 우심실 경계부에 가까운 우심실을 절개하여 우심실 유두근을 노출시키고 가늘고 긴 표본을 선택하여 6-0 정도의 명주실로 결찰하여 근장력 변환기에 생체 길이에 가깝도록 연결하였다. 준비 용기속에서 산소를 충분히 공급하면서 1시간 정도의 휴식으로 수술 도중에 가해진 손상으로부터 회복시켰다.

막전압을 측정하기 위한 유리 미세전극(conventional microelectrode)은 외경 1.0 mm, 내경 0.75mm이고 내부에 유리 Filament가 들어있는 경질 유리관으로 미세 전극 제작기(DKI 710)로 제작하였으며 그 끝이 직경 $1\mu m$ 가 넘지 않는 것을 확인하였다. 여과된 3M KCl을 전극의 뒷쪽에 채우면서 모세관 현상으로 끝까지 차는 것을 볼 수 있었다.

칼슘-선택성 유리 미세전극은 외경 1.5 mm, 내경 1.0 mm인 경질 유리관을 미세전극 제작기로 뽑은 후, 유리 표면이 갖는 친수성을 없애기 위해서 dichlorodimethyl sialnae을 한 방울 떨어뜨린 유리병 속에 전극을 끝이 아래를 향하도록 된 알루미늄 Holder에 꽂은 채 $200^{\circ}C$ 로 가열된 오븐 속에서 30분 내지 1시간 노출시킨 후 30분 정도 걸러서 천천히 식힌 후 꺼내어 Sialinazation시킴으로써 유리표면을 소수화(hydrophobization)하였다. 소수화된 미세 전극 속에 100 mM의 여과된 $CaCl_2$ 를 표준 용액으로 양압을 가하면서 채웠다. 이 때에는 현미경 하에서 미세 전극의 끝부분을 미세 전극 조작기에 부착된 직경 $0.15\mu m$ 의 백금선으로 건드려서 표준 용액이 잘 차도록 하였다. 미세 전극 내부가 완전히 표준용액으로 채워지고 전극의 끝 직경이 $1\mu m$ 정도이어서 세포에 적용이 간단하리라고 예측되는 경우에만 주사기에 의한 음압으로 칼슘 이온 운반물질(Fig. 2)을 $30\sim 700\mu m$ 의 두께로 전

극의 끝에서부터 채웠다.

칼슘-선택성 미세 전극은 무게 비율로 10%의 중성 칼슘 운반 물질, 1%의 Sodium Tetraphenylborate와 8%의 0-nitrophenyl-dctylether의 성분에 다시 무게 비로 14%의 PVC(Polyvinyl chloride)를 첨가하고 THF(Tetrahydrofuran)를 유기용매로 잘 녹게하여 칼슘 운반 물질과 함께 전극에 채웠다.

실험 장치의 구성은 1.5m L 용량의 실험용기 내의 온도를 35°C로 유지하기 위하여 실험용기로 들어 오기 직전에 용액은 온도 교환기를 거치도록 하였으며, Peristaltic pump(LKB2132)를 통하여 용액의 관류 속도를 5m L / min로 유지하였다. 100% 산소로 용액을 peristaltic pump 이전에서 포화시켰으며, 용액은 1분 정도에 실험 용기에 도달하였다.

전기 자극은 수직형 자극기(MEC 회사제 ME 6011)와 자극 분리기(MEC회사제 ME 6212)를 통하여 실험용기의 바닥에서 점자극되도록 하였으며 발생하는 등장성 수축력은 strain-gauge형의 장력 변환기(Grass 회사제 FT-03C)를 통하여 생리적 기록기(Grass 회사제 Polygraph 790)에 기록하였다. 유리 전극을 통하여 나타나는 막전압은 Microprobesystem(WPI, M707)을 통하여, 칼슘-선택성 전극을 거쳐서 나타나는 전압은 입력저항이 10^{15} ohm 이상인 고입력 저항 전류계를 통하여 Polygraph에 기록하였으며, 동시에 음극선관(Tektronix5223)과 수직형 전압계를 통하여 관찰과 동시에 전압의 변동을 수직으로도 파악하였다(Fig. 1). 실험 용기 및 고입력 저항 전류계의 Head stage는 Faraday cage 속에 설치하였고

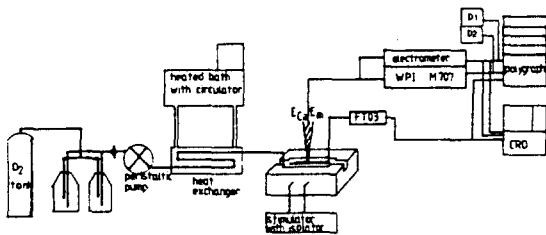


Fig. 1. Schematic representation of experimental instruments for recording intracellular calcium ion activities(ECa), membrane potential(Em), and isometric contraction in a isolated rabbit papillary muscle preparation. The abbreviations were follows. D1, D2: Digital multi-meters. C.R.O.: Cathode Ray Oscilloscope. WPI, M707: Conventional microelectrode amplifier, FT03: Force transducer

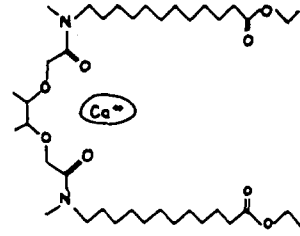


Fig. 2. Chemical structure of calcium-selective ligand. N, N'-di(11-ethoxy-carbonyl)-undecyl-N, N', 4, 5-tetramethyl-3, 6-dioxaoctane-1, 8-diamide(ETH-1001).

cage내의 여러기구는 잡파 제거를 위하여 모두 접지 하였다.

적출한 유두근 표면에 미세 전극과 칼슘-선택성 전극을 삽입할 때는 삼차원 현미경(Nikon사, Stereo-microscope)의 20-40배 배율로 보면서 미세조작기(Narishige사, MO102R)로 삽입하였다.

칼슘-선택성 전극을 위한 표준 용액의 제작은 p Ca 2에서 4까지는 140mM KCl, 10mM NaCl, 1mM MgCl₂와 CaCO₃-HCl의 반응으로 생성된 CaCl₂를 첨가하였으며 PH를 7.0으로 맞추기 위한 완충제로 Imidazole이나 HEPES를 5mM로 유지하였다. p Ca 5로부터 8까지는 EGTA를 칼슘 이온 완충제로 사용하였으며 PH 7.0에서 Ca-EGTA의 반응 상수를 $2.57 \times 10^{-6} M^{-1}$ (Blinks, 1986)로 하여 K2EGTA와 K2Ca EGTA 10mM 짜리를 혼합하여 만들었다. 칼슘-선택성 미세 전극의 저항은 30-50G ohm이었으며 실험의 결과를 얻은 직후에 표준화하였다.

연구 성적

등장성 수축력이 Vanadate에 의해 어느 정도 증가 되는가는 Fig. 3에 용량-수축력 증가 관계로 표시하였다. 5mM 정도로 최대인, 정상 Tyrode용액에서의 수축력의 거의 8배 까지 증가하였으며, 10mM 정도를 만들면 안정성 장력이 거의 등장성 연속의 크기에 가까운 정도로 증가되어 칼슘-선택성 전극의 세포내 삽입이 매우 어려웠다.

Vanadate의 농도가 1.28mM로 등장성 수축력의 크기가 5배 정도 증가된 경우의 미세전극에 의한 활동 전압의 모양을 Fig. 4에서 볼 수 있다. 활동전압의 기간이 수축 기간의 연장에 상응하는 약간의 증가를 보여준것 외에는 그 모양이나 크기에 별 변화가 없었다.

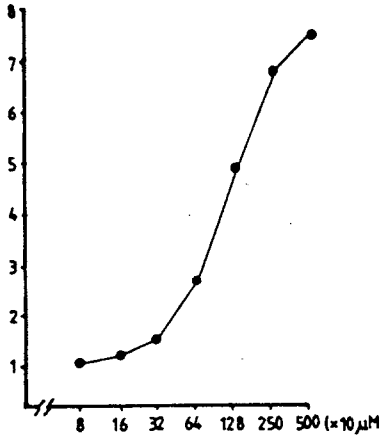


Fig. 3. Dose-response relationship of the isometric contractile amplitude of a rabbit papillary muscle and the concentration of vanadate. The amplitude of a isometric twitch was compared with that in normal Tyrode solution which was expressed as 1.

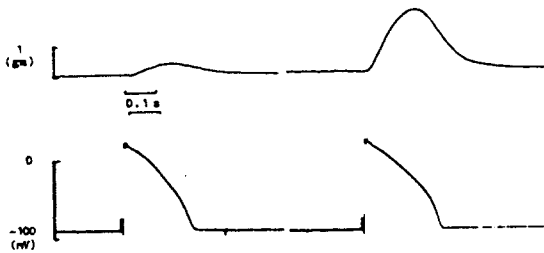


Fig. 4. Isometric contractile response and action potentials of a rabbit papillary muscle preparation in vanadate, 1.2 mM. Isometric contraction increased about 5 times in vanadate which showed little corresponding changes of action potential.

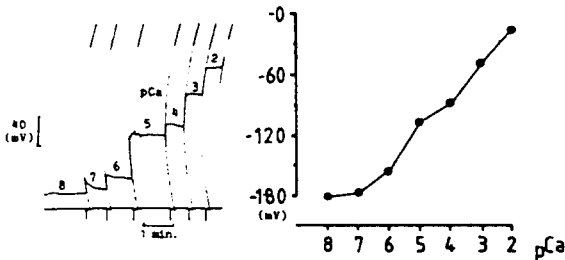


Fig. 5. Calibration of a calcium ion-selective electrode with a tip diameter of less than $1\ \mu\text{m}$. Calcium-selective ligand with PVC was filled up to about $500\ \mu\text{m}$.

전형적인 칼슘-선택성 전극의 세포내에서의 기록 후에 표준화한 모양을 Fig. 5에서 보면 이론적인 Nernstian slope인 $30\ \text{mV}/\text{decade}$ 와는 완전히 일치하지는 않으나 pCa 2에서 7까지는 상당한 직선 관계를 보여서 PVC를 첨가한 것이 안정성을 증가시킨 것으로 생각되었다.

Fig. 6에서는 적출 유두근 표본의 표면 세포에 칼슘-선택성 전극을 삽입시킨 전형적인 예를 보여준다. 이 경우에는 전압이 $-200\ \text{mV}$ 가량 떨어져서 pCa로 약 7.2의 값을 보인다. 이 값은 안정 상태의 표본에 정상적 Tyrode용액에서 기록된 것이다.

Vanadate를 $10\ \text{mM}$ 가량을 흘려서 안정시 장력에 거의 연속의 크기에 가깝게 증가된 경우에서 기록된 안정막 전압의 변화를 보인 Fig. 7에 의하면 약 $10\ \text{mV}$ 가량 과분극된 것을 볼 수 있어서 칼슘-선택성 전극의 기록에 이 정도의 오차를 만들 수 있는 것을 알 수 있었다.

$10\ \text{mV}$ 의 Vanadate로 강축이 일어난 표본에서의 성공적 칼슘-선택성 전극의 기록을 Fig. 8에서 볼 수 있다. 안정시 장력이 연속의 크기만큼 증가된 것을 알

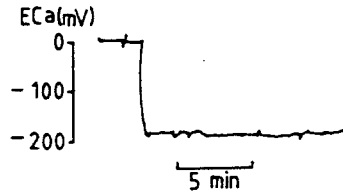


Fig. 6. Changes of calcium-selective electrode signal during insertion into a rabbit papillary muscle. This signal indicated about pCa 7.2 intracellular calcium ion activity.



Fig. 7. Upper panel showed the increase in resting tension of a rabbit papillary muscle preparation which could be induced by $10\ \text{mM}$ vanadate (\downarrow) and lower panel showed the resting membrane potential hyperpolarized about $10\ \text{mV}$.

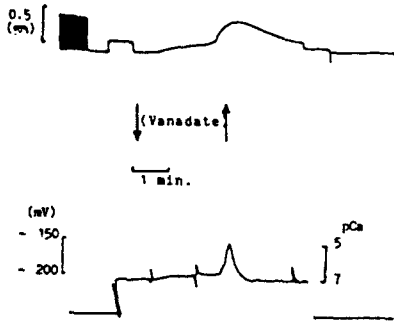


Fig. 8. Increased resting tension of a rabbit papillary muscle preparation by 10 mM vanadate which is almost same as that of an isometric twitch. (upper panel). Lower panel showed corresponding increase in intracellular calcium ion activity which slightly preceded the increase in resting tension.

수 있으며, 칼슘-선택성 전극의 전압이 +60 mV가량 변한 것을 볼 수 있으며, 칼슘 이온 활동도로는 pCa 7.0에서 4.9로 증가된 것을 표준화할 수 있었다. 시간적으로 장력의 증가보다 선행해서 칼슘 이온 활동도의 증가가 시작됨을 알 수 있고, 칼슘 이온 활동도의 급격한 감소 후에 장력이 따라서 서서히 감소함을 볼 수 있었다.

안정 상태와 Vanadate에 의한 강축 상태에서 기록된 칼슘 이온 활동도를 Table 1에 정리하였다. 10 mM의 Vanadate로 유발된 안정성 장력의 크기는 자극에 의한 연속 크기의 90-120%이었으며 안정성 세포 내 pCa는 7.1 ± 0.32 (mean \pm S.D.) 이었고 강축시 pCa는 5.8 ± 0.40 (mean \pm 9.0)으로 칼슘 이온 활동도는 70배 가량 증가된 것을 알 수 있었다.

Table 1. Intracellular calcium ion activations of rabbit ventricular muscle cells in the resting and contracted states. The contractures were induced by 10 mM vanadate and the amplitudes of them were 90-120% of the corresponding twitch tension.

	Resting state	Contracture state
pCa	6.6	5.0
	7.0	4.9
	7.2	5.0
	7.3	5.7
	7.4	5.7
(Mean \pm S.D)	(7.1 \pm 0.32)	(5.3 \pm 0.40)

칼슘 이온은 모든 세포에서 세포내 효소의 활동도, 유전자 활동, 홀몬이나 신경 전도 물질의 합성이나 세포막의 특성 등 거의 모든 생명 현상의 조절인자로 생각되고 있다(Kretzinger, 1977; Cheung, 1982).

근육에서는 Troponin-C에 결합하여 Actomyosin의 상호 작용으로 근수축이 일어나도록 유발, 유지시키는 흥분-수축 연결의 중요 물질로 간주되고 있다(Langer, 1973; Ebashi, 1976). 세포 내 칼슘 이온의 조절 기능으로는 근장그물이 가장 중요한 것으로 알려져 있으나(Ford and podolsky, 1970) 미토콘드리아(Carafoli and Crompton, 1977), 근막 부위(Langer, 1973; Philipson et al., 1980), 근막의 Ca²⁺-Pump(Martonos, 1980), 근막의 칼슘 이온 통로나 Na/Ca 교환기전의 중요도에 대해서도 아직 이론의 여지가 많다(Blinks, 1986).

그러나 이와같은 조절 기구를 통하여 조절된 세포질 내의 이온화된 칼슘이 안정성 얼마로 유지되며, 생리, 병리적 상태에서 얼마나 변화하는가에 대한 직접 측정 은 근래 10년 동안에 가능해졌다. 직접 측정 방법으로는 1) Ca²⁺-광단백질법, 2) 형광 지시 물질법, 3) 금속 반응성 색소법, 4) 칼슘-선택성 전극법 등이 있어서(Blinks et al., 1982) 각기 장단점을 가지고 있다. 1)-3)까지의 방법들은 반응 시간이 빨라서 빠른 변화를 기록하기가 좋으나 절대값의 표준화가 어렵다. 세포 내 삼입이나 근육 세포의 움직임으로 인한 측정상의 난점이 크다. 측정 물질 자체로 인한 세포 내 환경의 변화가 발생한다. 신호의 검출이 매우 어려워져 복잡하고 비싼 기제가 필요하다는 등의 단점이 있다(Blinks, 1986). 칼슘-선택성 전극도 전극 제작이나 측정 기술상의 난점은 비슷하나 다른 단점들이 적어서 심근 세포에도 비교적 잘 이용되고 있다(Lee et al., 1980).

이 방법의 유일 최대의 단점은 반응 시간이 매우 길어서 pCa 7에서 8 범위에서는 반응도 95%까지 가는데 30-60초나 걸리므로 빠른 변화를 추적적 곤란한데 있다(Blinks, 1986). 그러나 본 실험에서와 같이 상당 시간 강축을 일으킬 수 있는 조건에서는 매우 편리한 방법임에 틀림없다.

그러나 이와 같이 측정된 세포질의 이온화된 칼슘치는 "활동도"로 표시된 것이므로 세포 내 이온 강도를 모르고는 다른 화학적 방법으로 기록된 "농도"와 바로

비교 검토할 수 없는 난점이 있으며, 따라서 활동도 계수를 가정하고서나 농도로 표시할 수 있는 불편이 있으며, 본 실험에서의 안정시 세포 내 칼슘 이온 활동도인 $p\text{Ca } 7.1 (=79\text{ nM})$ 도 활동도 계수를 0.32로 보면 농도로는 248 nM이 된다(Blinks, 1986). 또한 칼슘-선택성 전극으로 측정된 실험치를 비교코자 할 때는 전극 끝의 직경이나 제작 후 얼마만에 실험에 사용하였는가가 문제가 된다. 왜냐하면 끝의 직경이 1 μm 이하가 되어야 세포에 적응이 가능하나 다른 이온에 대한 선택도는 나빠지며, 제작 후 5-12 시간이 되면 선택도는 아주 나빠져 낮은 $p\text{Ca}$ 범위에서는 사용이 불가능하기 때문이다(Thomas, 1982). 동시에 칼슘 이온 표준 용액에 EGTA를 완충 용액으로 썼다면 주어진 PH에서 Ca^{+2} -EGTA의 반응 상수(본 실험에서는 PH 7.0에서 $\log K+6.44$)-연구자마다 조금씩 다르게 사용하므로 결과를 반드시 밝혀야 한다(Blinks et al., 1982).

본 실험에서 기록된 Vanadate에 의한 감속시에서의 높은 칼슘 이온 활동도($p\text{Ca}, 5.3$)는 안정치의 70배 가량되나 동시에 일어나는 과분극 현상 때문에 막전압과 칼슘 이온 활동도가 동시에 기록되는 칼슘-선택성 전극의 특성으로 보아 실제보다 오히려 낮게 기록되었을 가능성이 있다.

Vanadate에 의해 안정시 장력이나 연속의 증가가 일어나나 활동 전압의 모양에 별 영향이 없었던 점은 Vanadate가 심근 세포에서의 빠른 쓰디뎀 전류나 재분극 시의 포타슘 전류(Noble, 1979) 보다는 칼슘 이온전류(Tsien, 1983)나 Na/Ca 교환 기전(Reuter and Seits, 1968; Mullins, 1981)에 영향을 주었을 가능성을 우선 생각할 수 있다. 또한 $\text{Na}-\text{K}$ pump에 대한 효과도 고려해야겠으나-pump에 대한 촉진보다는 억제 현상이 나타날 가능성-Vanadate에 의한 막전압의 과분극은 $\text{Na}-\text{K}$ pump에 대한 억제와는 반대 현상이었다(Gadsby and Cransfield, 1979).

심근 세포에서 발견된지도 20년이 된 Na/Ca 교환 기전(Reuter and Seits, 1968)이 세포 밖에서 안으로의 쓰디뎀 이온 경사를 타고 칼슘 이온이 밖으로 나와서 흥분시 유입 증가된 칼슘 이온을 원상으로 되돌리는 유출과 함께 세포 속으로의 칼슘 이온의 유입 현상(Baker et al., 1969)을 일으키는-양쪽 방향으로 모두 유입, 유출을 유발시킬 수 있는-중요한 기전으로 부각되고 있다(Noble, 1984). 지금까지 Na/Ca 교환 기전은 $3\text{Na}:1\text{Ca}$ 의 비율로 운반되어 eletrogenic한 것

으로 의심되며(Mullins, 1981). 이것이 사실이라면 Na/Ca 교환의 역전압은 $E_{\text{rev}}=3E_{\text{Na}}-2E_{\text{Ca}}$ 일 것이며, $E_{\text{Na}}=+60\text{mV}, E_{\text{Ca}}=+120\text{mV}$ 로 보면(Coraboeuf et al., 1981) $E_{\text{rev}}=-60\text{mV}$ 가 되어 이보다 탈분극된 상태에서는 쓰디뎀 유출-칼슘 유입으로 과분극된 상태에서는 쓰디뎀 유입-칼슘 유출로 역전압 쪽으로 오게될 것이다.

따라서 수축력의 증가·세포 내 칼슘 이온의 증가와 막전압의 과분극이 동시에 유발되려면 Na/Ca 교환 기전의 역전압보다 낮은 범위에서 역제가 일어나서 쓰디뎀의 유입 방해로 탈분극이 억제되고 칼슘의 유출 억제로 세포내의 증가로도 설명이 가능할 것이다. 그러나 Na/Ca 교환 기전의 역전 전압보다 탈분극된 상태에서의 변화와 칼슘 이온 통로에 대한 효과가 구명되어야 확실한 증명이 될 것으로 생각된다.

결 론

Vanadate의 심근 세포에 대한 효과를 관찰하기 위하여 집토키 유두근 표본에서 등장상 수축력, 막전압 및 세포 내 칼슘 이온 활동도를 비교하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. Vanadate 농도의 증가와 연속의 크기와의 용량-반응 곡선에서 보면 5mM에서 최대의 연속을 발생시켰다. 그리고 활동 전압은 큰 영향을 받지 않았다.
2. 안정 장력은 10mM의 Vanadate에 의해 거의 대조군의 연속 크기에 가깝게 발생되며 이때 안정막 전압은 과분극되었다.
3. 10mM의 Vanadate에 의해 증가된 안정시 장력 발생에 약간 선행하여 세포 내 칼슘 이온 활동도가 증가하고 이의 감소 후 곧 장력의 감소가 수반되었다.
4. 10mM의 Vanadate에 의한 경축의 크기는 대조 연속 크기의 90-120% 정도이었으며, 이때 세포 내 칼슘 이온 활동도는 $p\text{Ca}, 7.1$ 에서 5.3으로 70배 가량 증가하였다.

REFERENCES

1. 김충수, 방효원, 엄대용, 이상돈. Vanadate의 집토키의 심근 수축력과 활동 전압에 미치는 효과. 중앙의대지, 10(1): 51, 1985.

2. Akera, T., Takeda, K., Yamamoto, S. and Brody, T. *Effect of Vanadate on Na, K-ATPase and on the force of contraction in guinea pig hearts. Life Sciences, 25:1803, 1979.*
3. Akera, T., Temma, K. and Takeda, K. *Cardiac effects of Vanadium. Fed. Proc., 42(13): 1984, 1983.*
4. Baker, P.F., Blaustein, M.P., Hodgkin, A.L. and Steinhardt, R.A. *The Influence of Calcium on Sodium Efflux in squid axons. J. of Physiol., 200:431, 1969.*
5. Blinks, J.R. Intracellular (Ca^{+2}) measurements. In: *The heart and Cardiovascular system. ed. by H.A. Fozzard et al., 1986:671-701. Raven Press, New York.*
6. Blinks, J.R., Wier, W.G. and Prendergast, F.G. *Measurement of Ca^{+2} concentrations in living cells. In: Progress in biophysics and molecular biology. 40(2):1-114, 1982.*
7. Borchard, U., Fox, A.A.L., Greef, K. and Schliker, P. *Negative and positive inotropic action of Vanadate on atrial and ventricular myocardium. Nature, 279:339, 1978.*
8. Cantley, Jr., L.C., Josephson, L., Waner, R., Yanagisawa, M., Lechens, C and Guidotti, G. *Vanadate is a potent Na, K-ATPase inhibitor found in ATP derived from muscle. J. Biol. Chem., 252(21):7421, 1977.*
9. Cantley, Jr., L.C., Resh, M.D.G. and Guidotti, G. *Vanadate inhibits the red cell Na, K-ATPase from the cytoplasmic side. Nature, 272:552, 1978.*
10. Carafoli, E. and Crompton, M. *The regulation of intracellular calcium by mitochondria. Annals of the New York Academy Sciences, 307:269, 1977.*
11. Cheung, M.Y., Calmodulin: *Calcium ions are important intracellular messengers. Often their message is relayed by calmodulin, a ubiquitous protein that calcium ions and is thereby activated to regulate various enzymes. Sci. Am., June:48, 1982.*
12. Coraboeuf, E., Gautier, P. and Guirandou, P. *Potential and Tension changes induced by sodium removal in dog Purkinje fiber: Role of an electrogenic sodium-calcium exchange. J. Physiol. 305:605, 1981.*
13. Dipolo, R., Rojas, H.R. and Beauge, L. *Vanadate inhibits uncoupled Ca efflux but not Na-Ca exchange in squid axons. Nature, 291:228, 1979.*
14. Ebashi, S. *Excitation-Contraction coupling, Ann. Rev. Physiol., 38:293, 1976.*
15. Ford, L.E. and Podolsky, R. J. *Regenerative calcium release within muscle cells, Science, 167:58, 1970.*
16. Gadsby, D.C. and Cranefield, P.F. *Electrogenic sodium extrusion in cardiac Purkinje fibers. J. Gen. Physiol., 73:819, 1873.*
17. Josephson, L. and Cantley, Jr., L.C. *Isolation of potent Na, K-ATPase inhibitor from striated muscle. Biochemistry, 16(21):4572, 1977.*
18. Krawietz, W., Werdan, K. and Erdmann, E. *Stimulatory effect of Vanadate on the adenylate cyclase of cardiac tissue. Bioch. Pharm., 92:2517, 1979.*
19. Kretsinger, R.H. *Evolution of international role of calcium in eukaryocyte. In: Calcium binding protein and calcium function. ed. by Wasserman, R.H., 1977, p.62-77. Elsevier North Holland, New York.*
20. Langer, G.A. *Heart: Excitation-contraction coupling. Ann. Rev. Physiol., 35:55, 1973.*
21. Lee, C.O., Uhm, D.Y. and Dresdner, K. *Sodium-calcium exchange in rabbit heart muscle cells: Direct measurement of sarcoplasmic Ca^{+2} activity. Science, 209:699, 1980.*
22. Martonosi, A.N. *Calcium pump. Fed. Proc., 35(7):2401, 1980.*
23. Mullins, L.J. In: *Ion transport in heart. 1981, p.12-43, Raven Press, New York.*
24. Noble, D. In: *The initiation of the heart beat. 1979, p.43-102. Clarendon Press, Oxford.*
25. Noble, D. *The surprising heart: A review of recent progress in cardiac electrophysiology. J. physiol., 353:1, 1984.*
26. O'Neal, S.G., Rhoads, D.B. and Racker, E. *Vanadate inhibition of sarcoplasmic reticulum ATPase and other ATPase, Bioch. Biophys. Res. Comm., 89(3):843, 1979.*
27. Peterson, J.W. *Vanadate ion inhibits actomyosin interaction in chemically skinned vascular smooth muscle. Bioch. Biophys. Res. Comm., 95(4):1946, 1980.*
28. Philips, D.T., Nekay, B.R. and Heidelbaugh, N.D. *Vanadium: Chemistry and the kidney. Fed. Proc., 42(13):2969, 1983.*
29. Philipson, K.D., Bers, D.M., Nishimoto, A.Y. and Langer, G.A. *Binding of Calcium and sodium to*

- sarcoplaemic membrans: relation to control of myocardial contractility. Am. J. Physiol., 238:373, 1980.*
30. Reuter, H and Seitz, H. *The dependance of calcium efflux from cardiac muscle on temperature and external ion composition. J. Physiol., 195:451, 1968.*
 31. Rossi, J.P.F.C., Garrahan, P.J. and Rega, A.F. *Vanadate inhibition of active calcium transport across human red cell membranes. Bioch. Biophys. Acta, 648:145, 1981.*
 32. Schwabe, U., Puchstein, C. Hannenman, H. and Söchtig, E. *Activation of adenylate cyclase by Vanadate. Nature, 277:143, 1979.*
 33. Thomas, M.V. Calcium sensitive microelectrodes. In: *Techniques in calcium research. 1982, p.166-191, Academic Press, London.*
 34. Tsien, R.W. *Calcium channels in excitable cell membranes. Ann. Rev. Physiol., 45:341, 1983.*