

Serotonin에 의한 가토 신동맥 평활근 수축기전

충남대학교 의과대학 생리학교실

이 우 영 · 김 세 훈 · 장 석 종

(1990년 4월 20일 접수)

= Abstracts =

Contractile Mechanisms of Serotonin in the Renal Arterial smooth muscle of a Rabbit

Woo Young Lee, Se Hoon Kim and Seok Jong Chang

Department of Physiology, College of Medicine, Chungnam National University, Taejeon, Korea

The contractile mechanisms of serotonin were investigated in the renal artery of a rabbit.

The helical strips of isolated renal artery were immersed in the normal or Ca^{2+} -free tris-buffered Tyrode's solution, which was equilibrated with 100% O_2 at 35°C.

The contraction by serotonin or norepinephrine (NE) began at 1×10^{-7} M and reached the maximal contraction at 1×10^{-5} M. The maximal contraction by serotonin corresponded to $58.1 \pm 4.2\%$ of maximal contraction by NE.

Cyproheptadine, a serotonin receptor blocker, shifted the concentration-response curve to the right without any reduction in the maximum response but shifted that of NE to the right with reduction in maximum response. And phentolamine, an α -receptor blocker, shifted the concentration-response curve of serotonin or NE without any reduction in maximum responses. The pA_2 values for cyproheptadine against serotonin and NE were 10.35 ± 0.04 and 8.45 ± 0.13 , respectively. The pA_2 values for phentolamine against serotonin and NE were 6.87 ± 0.04 and 8.14 ± 0.08 , respectively. After the pretreatment with 6-hydroxydopamine, the contraction induced by 100 mM K^+ , tyramine and serotonin reduced to 83.0 ± 2.0 , 26.8 ± 6.2 and $82.0 \pm 3.5\%$ of control, respectively.

The contraction by serotonin in the Ca^{2+} -free Tyrode's solution was increased and sustained with the addition of Ca^{2+} extracellularly. The serotonin-sensitive intracellular Ca^{2+} pool was depleted completely by the pretreatment with NE, but the NE-sensitive intracellular Ca^{2+} pool was depleted partially by the pretreatment with serotonin.

From the above results, it is suggested that the contraction induced by serotonin in the renal artery of a rabbit may be due to mechanisms in which serotonin acts directly on specific serotonin receptors and also acts indirectly on α -adrenoceptors by displacing NE from neuronal stores.

Key Words: Serotonin, Serotonin-receptor, α -receptor, Arterial smooth muscle

서 론

혈관계에 대한 serotonin (5-hydroxytryptamine; 5-HT)의 작용은 매우 다양하여 혈관 평활근의 종류,

기본장력, 투여용량에 따라 수축 또는 이완작용을 갖는데 일반적으로 큰 동정맥에서는 수축작용을, 세동맥과 모세혈관에서는 이완작용을 나타내는 것으로 알려져있다. 이와같은 serotonin의 작용은 혈관 평활근에 대한 직접작용이거나 교감신경 말단에

작용하여 norepinephrine(NE)의 분비에 영향을 미치는 간접작용이거나, 또는 직접작용과 간접작용이 동시에 관여하는 것으로 알려져 왔다(Douglas, 1985; Haddy, 1960; Page & MaCubbin, 1953).

Serotonin은 내장혈관, 신혈관 및 뇌혈관에서 평활근에 분포하는 serotonin 수용체에 작용하여 매우 강력한 수축작용을 가지며(Douglas, 1985) 토끼의 간문맥에서도 수축증가 작용을 나타낸다(Cook & Macleod, 1978). 이와같은 serotonin의 직접적인 혈관 수축작용에 반하여 serotonin은 낮은 농도에서 골격근의 혈관 평활근에 분포하는 교감신경 말단에서 NE의 분비를 감소시켜 이완작용을 나타내며(Douglas, 1985), 개의 복재정맥에서는 serotonin이 낮은 농도일때는 직접 serotonin 수용체에 작용하여 수축반응을 나타내나 높은 농도(10^{-5} M 이상)일때는 교감신경말단에 작용하여 NE의 분비를 증가시켜 수축을 일으키기 때문에 이원적인(biphasic) 용량-반응 곡선을 나타낸다(Humphrey, 1978).

Serotonin의 수용체에 대한 직접작용에 의한 혈관 평활근의 수축 이완도 수용체의 분포가 동물 및 혈관 종류에 따라 달라서 다양하게 나타난다. 쥐의 대동맥, 경정맥 및 뇌저동맥은 5-HT₂ 수용체를 통하여 수축을 일으키며 guinea pig의 뇌저동맥, 개의 복재정맥에서는 5-HT₁ 수용체를 통하여 수축을 일으킨다(Cohen et al, 1981; Chang et al, 1988; Tuncer et al, 1985). 또한 Apperley등(1980)에 의하면 개의 복재정맥과 대퇴동맥에는 serotonin에 반응하는 수용체가 각기 달라 serotonin 길항제인 methysergide에 의하여 차단되는 효과가 다르다고 한다. 비혈관(nasal vessel)은 serotonin에 반응하는 두가지 상반된 수용체 즉, 수축에 관여하는 수용체와 이완에 관여하는 수용체가 서로 독립적으로 존재하는 혈관으로서 수축에 관여하는 수용체는 ergotamine에 의하여, 이완에 관여하는 수용체는 cyproheptadine 및 mainserine 등에 의하여 차단된다(Vargaftig & Lefort, 1974). 또한 serotonin은 serotonin 수용체 이외의 다른 수용체에 작용하여 혈관 평활근을 수축시키기도 하는데 토끼의 대동맥은 methysergide에 의하여 차단되는 5-HT 수용체가 존재하는 반면에 귀동맥(ear artery)에는 5-HT 수용체가 존재하지 않으며 serotonin에 의한 수축은 α -수용체를 통하여

일어난다(Apperley et al, 1976).

이와같이 serotonin에 의한 혈관 평활근의 수축양상은 다양한 기전을 통하여 나타나는데 serotonin 수용체의 종류 및 serotonin과 α -수용체와의 관계는 정확히 연구되어 있지 않다. 따라서 저자는 토끼 신동맥 평활근에서 serotonin 수용체의 존재여부와 α -수용체에의 작용여부, 그리고 serotonin의 혈관 평활근에 대한 직접 또는 간접작용 여부를 밝히기 위하여 serotonin 수용체 차단제인 cyproheptadine, α -수용체 차단제인 phentolamine, 교감신경 말단을 파괴하는 약물인 6-hydroxydopamine을 이용하여 serotonin의 신동맥 평활근에 대한 수축작용을 구명코자 하였다.

실 험 방 법

체중 2.0~2.5 kg의 뉴우질랜드산 백색 토끼를 암수 구별없이 실험동물로 사용하였다. 토끼의 흉분으로 인한 아드레날린의 분비를 최소로 줄이기 위하여 후두부를 순간적으로 강타하여 즉시제한 후 즉시 총경동맥을 절단하여 실험시켰다. 개복하여 신동맥을 적출한 후 100% 산소로 평형을 이룬 tris-원충 Tyrode 용액(NaCl 158, KCl 4, CaCl₂ 2, MaCl₂ 1, tris 5, glucose 6mM, pH 7.4 at 35°C)이 들어 있는 준비용기 내에서 혈관 주위조직을 깨끗이 박리하고 실온에서 1시간 동안 산소를 공급하면서 회복시켰다. 혈관 절제용 유리막대 끝에 고정하고 돌리면서 45도 방향으로 나비 2 mm, 길이 10 mm되게 안과 수술용 가위로 잘라 절편을 만들었다. 근육고정기에 절편 양 끝을 이완상태에서 실로 고정한 후 35°C에서 100% 산소로 평형을 이룬 tris-원충 Tyrode 용액이 들어 있는 실험용기(용량 100 ml)에 옮겼다. 근육 고정기의 유리선을 장력 변환기(F-60, Narco Biosystem)에 연결하고 20분 간격으로 새로운 용액을 갈아주면서 1시간 동안 회복시켰다. 이상의 처리가 끝난 후 견인기로서 혈관 절편을 길이의 10%씩 단계적으로 늘리면서 길이-장력 관계를 관찰하고 최적길이를 결정한 후 다시 1시간 이상 회복시켰으며 장력의 기록은 physiograph(MK-IV, Narco Biosystem)를 이용하였다(Chung et al, 1989).

용량-반응 곡선을 얻기 위하여 약물은 축적되게

(cumulative) 투여하였고 길항제 전처치는 수축물질 투여 20분 전에 하였다. 각 농도에 따른 길항제의 전처치 실험은 30분 이상의 간격을 두었으며 낮은 농도에서 높은 농도의 순으로 하였다. 길항제의 pA_2 값과 기울기(slope)는 Arunlakshana와 Schild의 방법(1959)에 의하여 구하였다. 6-hydroxydopamine 처치시에는 6-hydroxydopamine의 산화를 막기 위하여 $30 \mu M$ 의 glutathion을 함께 사용하였다.

K^+ -경축 용액으로는 정상 Tyrode 용액의 Na^+ 를 $96 mM$ 줄이고 대신 K^+ 을 높여 $100 mM$ 로 만든 K^+ -Tyrode 용액을 사용하였으며 Ca^{2+} -free Tyrode 용액은 잔존하는 Ca^{2+} 을 제거하기 위하여 $0.1 mM$ EGTA를 첨가하여 사용하였다.

실험에 사용된 약물은 다음과 같다.

5-Hydroxytryptamine creatinine sulfate (Sigma)

Arterenol hydrochloride (Sigma)

Cyproheptadine hydrochloride (Sigma)

Phentolamine (CIBA)

6-Hydroxydopamine hydrobromide (Sigma)

Tyramine hydrochloride (Sigma)

실험 성적

Serotonin과 norepinephrine(NE)에 의한 신동맥 평활근의 수축은 $1.0 \times 10^{-7} M$ 에서 시작하여 $1.0 \times 10^{-5} M$ 에서 최대에 도달하였으며 ED_{50} 은 각각 $4.29 \times 10^{-7} M$, $5.0 \times 10^{-7} M$ 로써 서로 유사하게 나타났으나 serotonin에 의한 최대수축은 NE에 의한 최대 수축의 $58.1 \pm 4.2\%$ 이었다(Fig. 1). Cyproheptadine과 phentolamine이 serotonin과 NE의 용량-반응 곡선에 미치는 영향을 관찰하였다(Fig. 2, 3, 4, 5, Table 1). Cyproheptadine($1 \times 10^{-10} \sim 1 \times 10^{-6} M$)과 phentolamine($1 \times 10^{-8} \sim 1 \times 10^{-5} M$) 그 자체는 신동맥 평활근을 수축시키지 않았다. Fig. 2, 3, 4, 5에 도시된 바와 같이 각각의 길항제들은 serotonin과 NE에 의한 용량-반응 곡선을 오른쪽으로 이동시켰으며 Schild plot상에서 cyproheptadine은 serotonin에 대하여, phentolamine은 NE에 대하여 기울기가 1에 가까운 직선을 나타내었으나 cyproheptadine은 농도를 증가시키기에 따라 NE에 의한 용량-반응 곡선의 최대수축력을 감소시키는 양상을 나타내었다.

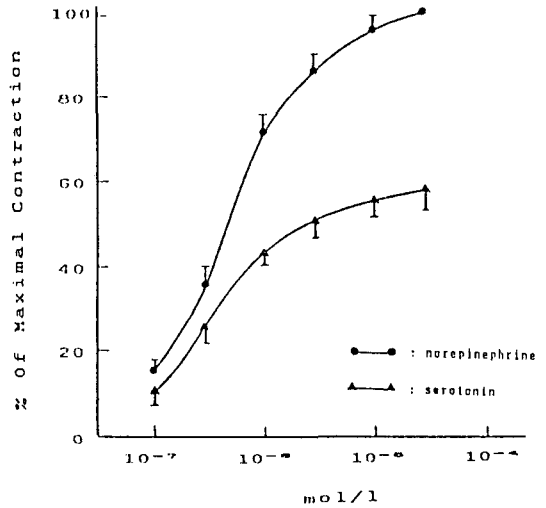


Fig. 1. Concentration-effect curves for norepinephrine (NE), serotonin in the renal artery. Ordinate scale represents the responses as a percentage of the maximum response of control. Each point is the mean value from 7 arterial strips. Vertical lines show s.e. mean.

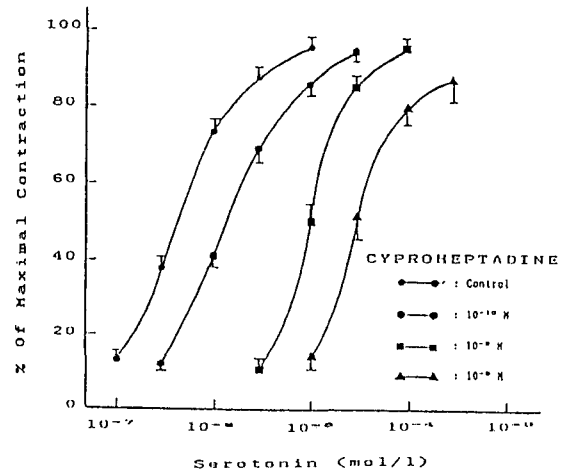


Fig. 2. Effect of cyproheptadine on the serotonin-induced contraction of renal artery. Ordinate scale represents the responses as a percentage of the contraction induced by serotonin ($3 \times 10^{-5} M$). Each point is mean value from 5 strips. Vertical lines show s.e. mean.

Cyproheptadine의 serotonin과 NE에 대한 pA_2 값은 각각 10.35 ± 0.04 , 8.45 ± 0.13 으로써 NE보다 serotonin에 더 강력한 길항효과를 나타냈으며 phento-

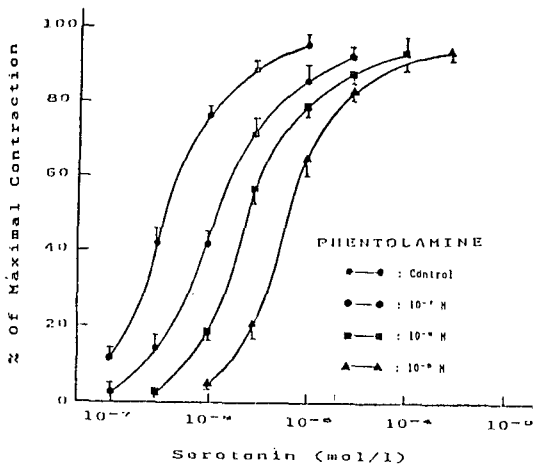


Fig. 3. Effect of phentolamine on the serotonin-induced contraction of renal artery. Ordinate scale represents the responses as a percentage of the contraction induced by serotonin (3×10^{-5} M). Each point is mean value from 5 strips. Vertical lines show s.e. mean.

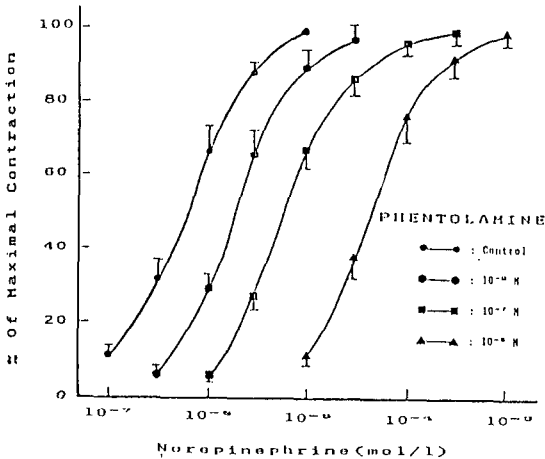


Fig. 4. Effect of phentolamine on the norepinephrine (NE)-induced contraction of renal artery. Ordinate scale represents the responses as a percentage of the maximum response of control. Each point is mean value from 5 strips. Vertical lines show s.e. mean.

lamine의 serotonin과 NE에 대한 pA_2 값은 각각 6.87 ± 0.04 , 8.14 ± 0.08 로써 serotonin보다 NE에 더 강력하게 길항효과를 나타냈다.

Serotonin이 혈관 평활근에 분포하는 serotonin 수

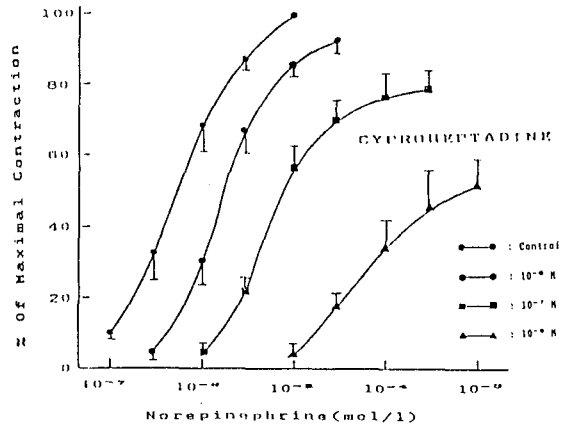


Fig. 5. Effect of cyproheptadine on norepinephrine (NE)-induced contraction of renal artery. Ordinate scale represents the responses as a percentage of the maximum response of control. Each point is mean value from 5 strips. Vertical lines show s.e. mean.

Table 1. Interactions between agonists and antagonists in the renal artery of a rabbit

		Serotonin	NE
Cyproheptadine	pA_2	10.35 ± 0.04	8.45 ± 0.13
	slope	1.0	—
Phentolamine	pA_2	6.87 ± 0.04	8.14 ± 0.08
	slope	0.47	0.77

용체에 직접작용하여 수축을 일으키는 교감신경 말단에 작용하여 NE의 유리에 영향을 미쳐 수축을 일으키는 간접작용인지를 밝히기 위하여 serotonin과 교감신경말단에서 NE을 유리시켜 평활근을 수축시키는 물질인 tyramine을 각기 반복적으로 노출시켜 점차로 수축의 크기가 작아지는 tachyphylaxis 현상이 있는지를 관찰한 후 (Fig. 6) 6-hydroxydopamine 전처치가 100 mM K^+ , tyramine (1×10^{-4} M), serotonin (3×10^{-5} M)에 의한 수축에 미치는 영향을 검토하였다 (Fig. 7). 신동맥 평활근을 serotonin에 10분 이상 노출시켜 최대값을 확인한 후 5분마다 정상 Tyrode 용액으로 3회 이상 세척하면 완전히 이완되어 정상상태로 돌아오는데 여기에 같은 농도의 serotonin을 다시 노출시키면 전혀 수축의 감소가 없

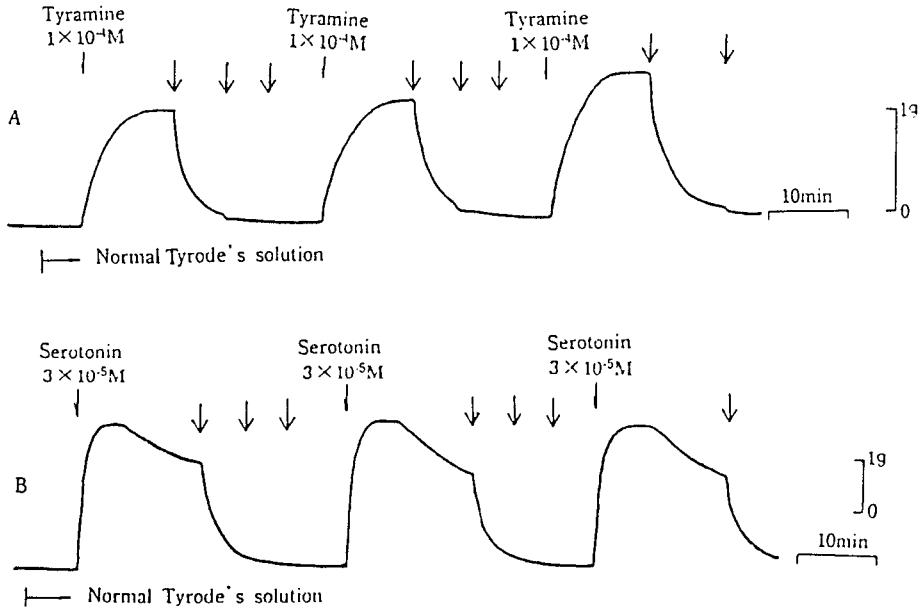


Fig. 6. Reproducibility of contractile response to tyramine (A) and serotonin (B) (no tachyphylaxis). Amplitude of contraction was not reduced, when the renal arterial strip was exposed repeatedly to tyramine and serotonin. ↓ : washing with normal Tyrode's solution.

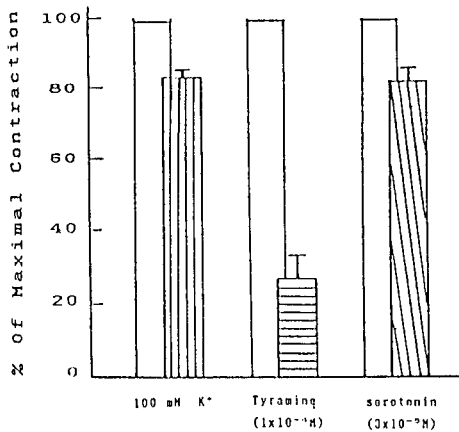


Fig. 7. Effect of 6-hydroxydopamine on the response to 100 mM K⁺, tyramine and serotonin of renal artery. Each is mean value from 5 strips. Vertical lines show s.e. mean. Open columns; control responses, hatched columns; responses after 6-hydroxydopamine treatment (300 $\mu g/ml$, for 15 min). Tyramine induced contraction was greatly reduced after 6-hydroxydopamine treatment. 100 mM K⁺-and serotonin-induced contraction was also reduced but it is not so great.

으며 tyramine에 의한 수축도 serotonin과 마찬가지로 수축의 감소현상은 없었으나 수축반응이 serotonin에 비하여 늦게 나타났으며 최대수축에 도달하는 시간 역시 오래걸렸다. 또한 6-hydroxydopamine 처치전에 100 mM K⁺, tyramine, serotonin으로 각각 수축을 일으켜 대조치를 결정한 후 6-hydroxydopamine (300 $\mu g/ml$)을 glutathion (30 μM)과 함께 투여하여 15분간 처치하고 정상 Tyrode 용액에서 2시간 동안 회복시킨 후 100 mM K⁺, tyramine, serotonin으로 각각 수축시켜 대조치와 비교하였다. 그 결과 대조치에 비하여 각각 83.0 ± 2.0 , 26.8 ± 6.2 , $82.0 \pm 3.5\%$ 의 수축을 나타냈으며 glutathion만 단독으로 처치하였을 때는 각각의 수축에 영향을 미치지 못하였다.

세포내외의 Ca²⁺이 serotonin에 의한 수축에 어떻게 기여하며 NE에 의한 수축시 동원되는 Ca²⁺과 어떻게 다른지를 규명하기 위하여 0.1 mM EGTA가 첨가된 Ca²⁺-free Tyrode 용액에서 serotonin ($3 \times 10^{-5} M$)을 투여하여 수축반응을 관찰한 후 세포외 용액에 Ca²⁺을 투여하였다. 그 결과 Ca²⁺-free

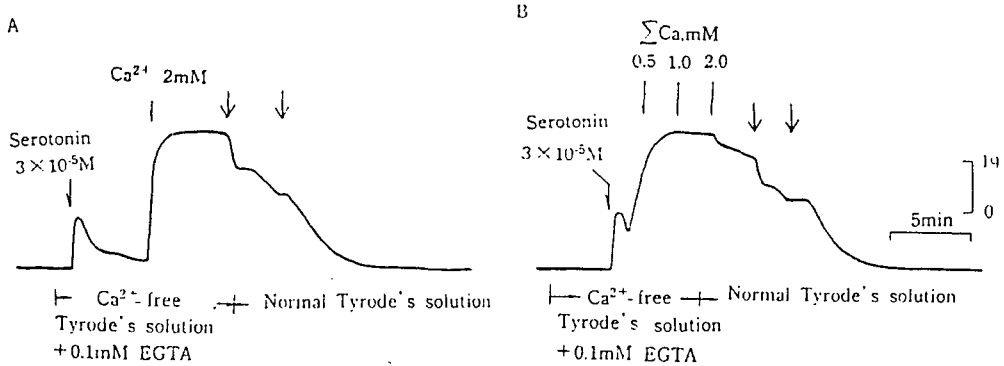


Fig. 8. Effect of extracellular Ca^{2+} on the serotonin-induced contraction of renal artery. Even in the Ca^{2+} -free Tyrode's solution, serotonin induced contraction, but it was not sustained. The contraction reached the maximum at 0.5 mM of extracellular Ca^{2+} and tonicity was sustained by extracellular Ca^{2+} .
 ↓ : washing with normal Tyrode's solution.

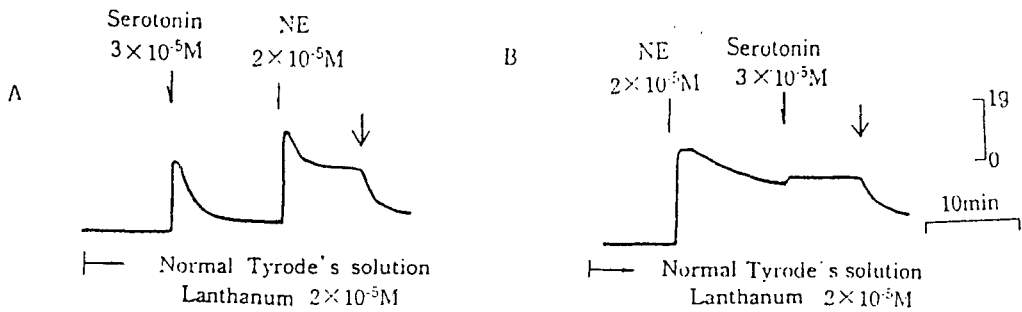


Fig. 9. Tracing of tension responses seen in $2 \times 10^{-5} M La^{3+}$ pretreated solution with the sequential addition of serotonin and norepinephrine (NE) (A), NE and serotonin (B).
 ↓ : washing with normal Tyrode's solution.

Tyrode 용액에서 serotonin은 상당한 크기의 수축을 일으켰으나 최대 수축후 곧 장력이 서서히 감소하였으며 세포외 용액의 Ca^{2+} 에 의하여 수축이 증가하고 장력이 유지되었다. 세포외 용액의 Ca^{2+} 을 단계적으로 증가시킨 결과 Ca^{2+} 0.5 mM에서 최대수축에 도달하였으며 2 mM 이상에서는 오히려 수축이 감소하였다(Fig. 8). La^{3+} 의 특성을 이용하여 serotonin에 의한 신동맥 평활근 수축시 세포내에서 동원되는 Ca^{2+} 공급원을 더 밝혀보기 위하여 La^{3+} $2 \times 10^{-5} M$ 을 전처치하고 NE으로 수축시킨 후 serotonin을 투여한 결과 serotonin에 의한 수축반응

은 나타나지 않았으나 La^{3+} 전처치 후 serotonin으로 먼저 수축시키고 NE을 투여한 결과 또 다른 수축반응을 나타냈다(Fig. 9). 또한 Ca^{2+} -free Tyrode 용액에서 NE과 serotonin으로 각각 반복 수축시켜 각각의 수축 물질에 의하여 동원되는 세포내 Ca^{2+} 을 고갈시킨 뒤 serotonin과 NE을 각각 투여하여 수축을 관찰하였다. 그 결과 NE에 의하여 동원되는 세포내 Ca^{2+} 이 고갈된 후에는 serotonin에 의하여 수축이 일어나지 않았으나 serotonin에 의하여 동원되는 세포내 Ca^{2+} 이 고갈된 후에는 NE에 의하여 또 다른 수축이 일어났다(Fig. 10).

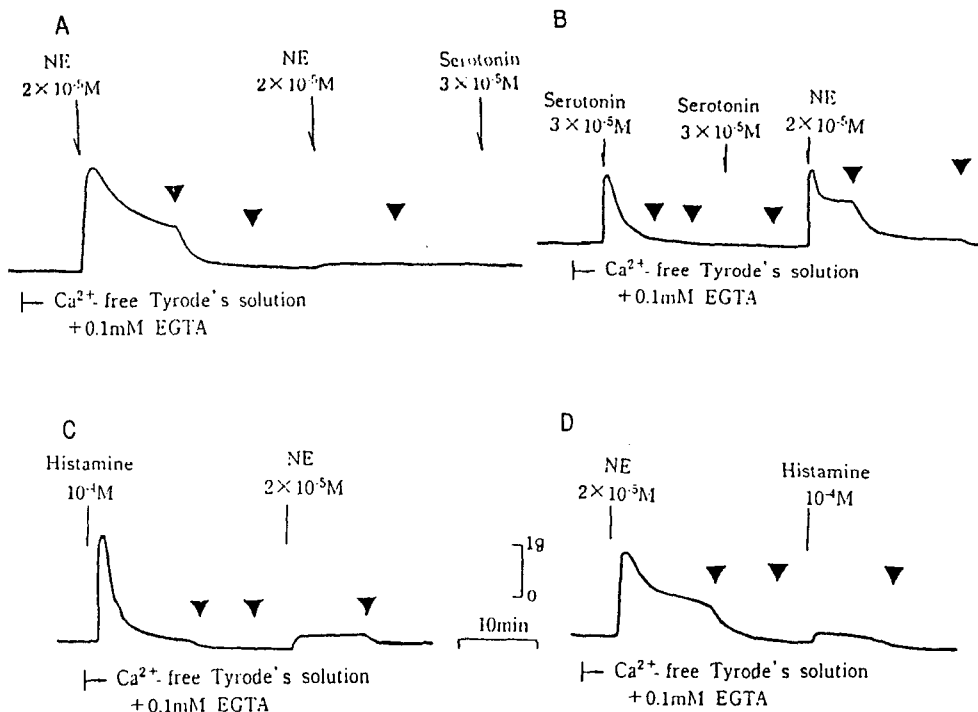


Fig. 10. Tracing of tension response seen in Ca^{2+} -free Tyrode's solution with the sequential addition of norepinephrine (NE) and serotonin (A), serotonin and NE (B), histamine and NE (C), NE and histamine (D).

▼ : washing with Ca^{2+} -free Tyrode's solution.

고 찰

Serotonin에 의한 신동맥 평활근 수축시 serotonin이 작용하는 수용체를 규명하기 위하여 serotonin 수용체 차단제(cyproheptadine)와 α -수용체 차단제(phentolamine)를 이용하였다. 차단제의 수축물질에 대한 길항효과는 수축물질에 대한 차단제의 pA_2 값을 구하여 비교하였으며(Furchgott, 1972) 수축물질에 대한 길항제들의 경쟁적 길항여부는 Schild plot상에서 기울기를 구하여 검토하였다. 그 결과 cyproheptadine은 NE보다 serotonin에 대하여 더 강력한 길항효과를 나타냈으며 serotonin에 대해서는 경쟁적으로 NE에 대해서는 비경쟁적으로 길항효과를 나타내었다. 반면에 phentolamine은 serotonin보다는 NE에 더 강력한 길항효과를 나타냈으며 더 경쟁적으로 작용하였다.

위와같은 결과는 serotonin과 NE이 각기 다른 수용체에 작용하여 혈관 평활근을 수축시킴을 나타낸다. 즉, serotonin은 cyproheptadine에 의하여 차단되는 serotonin 수용체를 통하여, NE은 phentolamine에 의하여 차단되는 α -수용체를 통하여 수축작용을 나타냄을 보여준다. 물론 위의 결과들은 serotonin과 serotonin 수용체 차단제가 α -수용체에 작용할 수 있음을 보여주기도 한다. Vane(1960)에 의하면 쥐의 위 절편에서 일부 α -수용체 작용물질들은 serotonin 수용체에 작용한다고 하였으며 Apperley(1976)는 serotonin과 NE의 serotonin 수용체와 α -수용체에 대한 이와같은 교환작용(cross activity)에 대하여 두개의 수용체가 각기 독립적으로 존재하나 공통의 특징을 갖고있기 때문이라 하였다.

Serotonin이 혈관 평활근을 수축시키는 기전은

serotonin 수용체에 직접 작용하여 수축을 일으키는 외에 교감신경 말단에 작용하여 수축물질을 유리시키는 간접작용과 직·간접작용이 혼합되어 나타날 수 있다(Douglas, 1985; Cook & Macleod, 1978; Humphrey, 1978). 따라서 본 연구에서는 최대수축을 일으키는 농도이상인 serotonin 3×10^{-5} M을 반복 투여하여 tachyphylaxis 현상의 유무를 확인하고 교감신경 말단을 파괴하는 물질인 6-hydroxydopamine (Aprigliano & Hermsmeyer, 1976; Malmfors & Sachs, 1968; Wadsworth, 1973)을 처치한 후 100 mM K⁺ 용액으로 혈관 평활근 수축성의 정상여부를 확인한 다음 serotonin과 교감신경말단에서 NE을 분비시키는 물질인 tyramine (Weiner, 1985)을 각각 투여하여 6-hydroxydopamine 처치전의 수축력과 비교하였다. Serotonin 반복 투여에 의하여 tachyphylaxis 현상은 없었으며 6-hydroxydopamine 처치 후에 tyramine에 의한 수축은 현저히 감소하였으며 serotonin과 100 mM K⁺에 의한 수축도 약 20% 정도 감소하였다. 이와같은 결과는 100 mM K⁺과 serotonin에 의한 수축중 일부는 각 수축제의 혈관 평활근에 대한 간접작용에 의함을 시사하나 수축의 대부분은 혈관 평활근에 직접 작용하여 나타남을 알 수 있다. K⁺-Tyrode 용액내에서는 많은 평활근에서 acetylcholine과 NE이 조직내의 신경말단에서 유리되며 몇몇 평활근에서는 이 전달물질의 유리로 인하여 수축을 일으킬 수 있는 것으로 알려져 있다(Golenhofen & Hermstein, 1975; Lorenz & Vanhoutte, 1975; Vanhoutte & Verbeuren, 1976; Kim et al, 1979). Serotonin도 또한 복재정맥 등에서 조직내 신경말단에서 NE을 유리하여 수축반응을 일으키는 것으로 알려져 있다(Humphrey, 1978).

근 수축에는 근장내로의 Ca²⁺ 동원이 반드시 필요하며 이의 공급원으로는 근장근물을 포함한 세포내 Ca²⁺ 저장고로부터 유리되는 Ca²⁺과 세포막 외면에 느슨하게 결합된 것을 포함한 세포외 Ca²⁺이다(Bohr, 1973; Prosser, 1974). Serotonin이 수축에 필요한 Ca²⁺을 어떻게 동원하며 NE과는 어떻게 다른가를 밝히기 위하여 0.1 mM EGTA가 첨가된 Ca²⁺-free Tyrode 용액에서 serotonin을 투여한 결과 serotonin은 신동맥 평활근을 수축시켰으나 긴장도는 유지되지 못하였으며 세포외 용액에 Ca²⁺을 단

계적으로 투여한 결과 수축의 증가와 더불어 긴장도가 유지되었다. 이는 serotonin도 다른 수축물질들(NE, histamine 및 angiotensin)과 같이 초기의 위상성 수축시에는 세포내 Ca²⁺을 이용하며 수축의 긴장도를 유지하기 위해서는 세포외 Ca²⁺의 공급이 필요함을 보여준다(Bohr, 1963; Deth & van Breemen, 1974; Hudgins & Weiss, 1968).

Serotonin에 의하여 근장내로 유리되는 세포내 저장 Ca²⁺이 NE에 의하여 유리되는 세포내 저장 Ca²⁺과 어떻게 다른가를 규명하기 위하여 첫째, 세포막에는 결합하나 세포내로는 유입되지 않으며 세포막을 통한 Ca²⁺의 유입을 막는 것으로 알려진 La³⁺ (Langer, 1976; van Breemen, 1969; van Breemen et al, 1972)을 전처치하고 NE으로 수축시킨 후 serotonin을 투여한 결과 전혀 수축을 일으키지 못하였으나 La³⁺을 전처치한 후 serotonin으로 수축시키고 NE를 투여한 결과 또다른 수축을 일으켰다. 둘째, Ca²⁺-free Tyrode 용액내에서 NE로 반복 수축시켜 NE에 의한 수축시 유리되는 세포내 Ca²⁺ 저장고를 고갈시킨 후 serotonin을 투여한 결과 수축반응이 없었으나 serotonin 반복 투여로 serotonin에 의해 유리되는 세포내 Ca²⁺ 저장고를 고갈시킨 후 NE을 투여했을 때 또다른 수축반응을 보였다. 혈관 평활근의 수용체에 작용하여 수축을 일으키는 물질인 NE 및 histamine은 대동맥 평활근에서 세포내의 같은 Ca²⁺ 저장소에서 Ca²⁺을 유리시키며 이와는 달리 prostaglandin H₂와 angiotensin II는 각기 다른 Ca²⁺ 저장소에서 Ca²⁺을 유리시키나 NE 전처치에 의하여 prostaglandin H₂와 angiotensin II에 의해 동원되는 세포내 저장 Ca²⁺도 완전히 고갈된다. 이는 혈관 수축물질들이 그 물질들의 수용체와 관련되어 있는 각각의 세포내 Ca²⁺ 저장소를 갖고 있음으로써 위와같은 현상이 나타난다고 하였다(Deth & van Breemen, 1974; Loutzenhisser & van Breemen, 1981). 따라서 위의 결과들은 serotonin에 의해서 유리되는 세포내 Ca²⁺ 저장소는 NE에 의해서 유리되는 세포내 Ca²⁺ 저장소의 일부에 해당되며 serotonin은 NE과는 다른 수용체에 작용하여 수축을 일으킴을 간접적으로 시사한다.

결 론

Serotonin에 의한 가토 신동맥 평활근의 수축기전을 규명하고자 하였다. 가토의 신동맥을 적출하고 절편 (helical strip)을 만들어 35°C, 100% 산소로 포화시킨 정상 tris-원충 Tyrode(또는 Ca²⁺-free Tyrode) 용액에서 serotonin과 norepinephrine(NE)으로 수축시켰다.

수축에 대한 α- 및 serotonin 수용체 차단제의 영향, serotonin의 교감신경 말단에 대한 작용 및 Ca²⁺ 동원을 검토하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1) Serotonin과 NE에 의한 수축은 1×10⁻⁷ M에서 시작되어 1×10⁻⁵ M에서 최대에 이르렀고 serotonin에 의한 최대수축은 NE에 의한 최대수축의 58.1±4.2%이었다.

2) Cyproheptadine은 NE보다 serotonin에 더 강력하고 경쟁적인 길항제로 작용하였으며 phentolamine은 serotonin보다 NE에 더 강력하고 경쟁적인 길항제로 작용하였다.

3) Serotonin에 의한 수축은 tachyphylaxis 현상을 나타내지 않았으며 6-hydroxydopamine 전처치 후 100 mM K⁺, tyramine 및 serotonin에 의한 수축은 전처치 전에 비해 각각 83.0±2.0%, 26.8±6.2% 및 82.0±3.5%이었다.

4) Serotonin은 Ca²⁺-free Tyrode 용액에서 신동맥 평활근을 수축시켰으며 세포외 용액에 Ca²⁺을 투여하면 수축은 부가적으로 증가하였다.

5) La³⁺ 전처치 후 NE으로 수축을 일으키고 serotonin을 투여하면 수축이 일어나지 않았으나 serotonin으로 수축을 일으키고 NE을 투여하면 또 다른 수축을 일으켰다.

이상의 결과로 보아 가토 신동맥 평활근에서 serotonin은 serotonin 수용체에 직접 작용할 뿐만 아니라 교감신경 말단에도 작용하여 세포 내외의 Ca²⁺을 동원하여 수축을 일으키는 것으로 사료된다.

REFERENCES

Apperley E, Feniuk W, Humphrey PPA & Levy GP

(1980). Evidence for two types of excitatory receptors for 5-hydroxytryptamine in dog isolated vasculature. *Br J Pharmacol* 68, 215-224

Apperley E, Humphrey PPA & Levy GP (1976). Receptors for 5-hydroxytryptamine and noradrenaline in rabbit isolated ear artery and aorta. *Br J Pharmacol* 58, 211-221

Aprigliano O & Hermsmeyer K (1976). In vitro denervation of the portal vein and caudal artery of the rat. *J Pharmacol Exp Ther* 198, 568-577

Arunlakshana O & Schild HO (1959). Some quantitative uses of drug antagonist. *Br J Pharmacol Chemother* 14, 48-58

Bohr DF (1963). Vascular smooth muscle: dual effect of calcium. *Science* 139, 597-599

Bohr DF (1973). Vascular smooth muscle updated. *Circ Res* 32, 665-672

Chang JY, Hardebo JE & Owman CH (1988). Differential vasomotor action of noradrenaline, serotonin and histamine in isolated basilar artery from rat and guinea pig. *Acta Physiol Scand* 132, 92-102

Chung SS, Kim SH, Chang SJ, Park HK (1989). The effects of prostaglandin F_{2α} on the contractility of vascular smooth muscle in the aortic smooth muscle of rabbits. *Korean J Physiol* 23, 99-108

Cohen ML, Fuller RW & Wiley KS (1981). Evidence for 5-HT₂ receptors mediating contraction in vascular smooth muscle. *J Pharmacol Exp Ther* 218, 421-425

Cook DA & Macleod KM (1978). Responses of rabbit portal vein to histamine. *Br J Pharmacol* 62, 165-170

Deth R & van Breemen C (1974). Relative contributions of Ca²⁺ influx and cellular Ca²⁺ release during drug induced activation of rabbit aorta. *Pflugers Arch* 348, 13-22

Douglas WW (1985). Histamine and 5-hydroxytryptamine (serotonin) and their antagonists. In: Gilman et al. (ed) *The pharmacological basis of therapeutics, 7th edition*. Macmillan Pub Com, New York, p605-638

Furchgott RF (1972). The classification of adrenoceptors (adrenergic receptor). An evaluation from the stand point of receptor theory. In: Blaschko H & Muscholl E. (ed) *Catecholamine, Handb Exp Pharmacol NS 33*, Springer-Verlag. Berlin & Heidelberg, p288-289

Golenhofen K and Hermstein N (1975). Differentiation of calcium activation mechanisms in vascular

- smooth muscle by selective suppression with verapamil and D600. *Blood vessels* 12, 21-37
- Haddy FJ (1960). Serotonin and vascular system. *Angiology* 11, 21-
- Hudgins P & Weiss GB (1968). Differential effects of calcium removal upon vascular smooth muscle contraction induced by norepinephrine, histamine and potassium. *J Pharmacol Exp Ther* 159, 91-97
- Humphrey PPA (1973). The effect of α -adrenoceptor antagonists on contractile responses to 5-hydroxytryptamine in dog saphenous vein. *Br J Pharmacol* 63, 671-675
- Kim KW, Hwang SI & Nam KY (1979). Different mechanisms of K-induced contracture in isolated vascular and intestinal smooth muscles. *Korean J Physiol* 13, 41-50 (in Korea)
- Langer GA (1976). Event at the cardiac sarcolemma: localization and movement of contractile dependent calcium. *Fed Proc* 35, 1274
- Lorenz RR and Vanhoutte PM (1975). Inhibition of adrenergic neurotransmission in isolated veins of dog by potassium ions. *J Physiol* 246, 479-500
- Loutzenhiser R & van Breemen C (1981). Mechanisms of activation of isolated aorta by the stable PGH₂ analogue, U-44069. *Am J Physiol* 241, C243-C249
- Malmfors T & Sachs CH (1968). Denervation of adrenergic nerves produced by 6-hydroxydopamine. *Eur J Phar* 3, 89-92
- Page IH & McCubbin JW (1953). The variable arterial pressure response to serotonin in laboratory animals and man. *Circ Res* 1, 354
- Prosser CL (1974). Smooth muscle. *Ann Rev Physiol* 36, 503-533
- Tuncer M, Dogan N, Ilhan M & Kayaalp SO (1985). Serotonin induced contraction of canine saphenous vein; mediation by 5-HT₂ receptors. *Arch Int Pharmacodyn* 274, 305-312
- van Breemen C (1969). Blockade of membrane calcium fluxes by lanthanum in relation to vascular smooth muscle contractility. *Arch Int Physiol Biochem* 77, 710-716
- van Breemen C, Farinas BR, Gerba P & McNaughton ED (1972). Excitation-contraction coupling in the rabbit aorta studied by the lanthanum method for measuring cellular calcium influx. *Circ Res* 30, 44-54
- Vane JR (1960). The action of sympathomimetic amines on tryptamine receptors. In: Vane JR et al (ed). *Adrenergic mechanisms*. Churchill Livingstone, London, p356-372
- Vanhoutte PM & Verbeuren TJ (1976). Inhibition by acetylcholine of the norepinephrine release evoked by potassium in canine saphenous veins. *Circ Res* 39, 263-269
- Vargaftig BB & Lefort J (1974). Pharmacological evidence for vasodilator receptor to serotonin in the nasal vessels of the dog. *Eur J Pharmacol* 25, 216-225
- Wadsworth RM (1973). Abolition of neurally evoked motor responses of vas deferens by 6-hydroxydopamine. *Eur J Pharmacol* 21, 383-397
- Weiner N (1985). Norepinephrine, epinephrine and sympathomimetic amines. In: Gilman et al (ed). *The pharmacological basis of therapeutics*, 7th edition. Macmillan Pub Com, New York, p145-180