

## 돼지 심근내 관상동맥의 고K<sup>+</sup> 및 아세틸콜린 수축에 미치는 노아드레날린과 내피세포의 작용

장 동 철\* · 이 영\*

—Abstract—

### Effect of Noradrenaline and Endothelium on the High K<sup>+</sup> or Ach-induced Contraction in the Pig Myocardial Coronary Artery

Dong Cheol Jang, M.D.\*, Young Lee, M.D.\*

Effect of noradrenaline and endothelium on the high K<sup>+</sup>- or Ach-induced contraction were investigated in the pig myocardial coronary artery. The helical strip of isolated pig myocardial coronary artery was immersed in the Tris-buffered Tyrode's solution equilibrated with 100% O<sub>2</sub> at 37°C and its isometric tension was measured.

High K<sup>+</sup>- and Ach-induced contraction were dose-dependent. By denuding the endothelium, dose-contraction curve of K<sup>+</sup> was not shifted significantly to the left and upward, but that of Ach was shifted significantly to same direction. 25 mM K<sup>+</sup>- and Ach-induced contraction were relaxed by norepinephrine (NE). NE-induced relaxation was blocked by the pretreatment of propranolol, which was known as  $\beta$ -adrenoceptor blocker. And, phenylephrine known as  $\alpha$ -adrenoceptor agonist, and clonidine known as  $\alpha$ -adrenoceptor agonist increased the 25mM K<sup>+</sup>-induced contraction respectively. Denuding of endothelium did not show any significant effects on NE-induced relaxation and contraction increased by phenylephrine and clonidine. Tyramine increased 25mM K<sup>+</sup>-induced contraction further. The contractile response by tyramine on the 25mM K<sup>+</sup>-induced contraction was not blocked by the pretreatment of phentolamine, but was partially blocked by the pretreatment of atropine.

From the above results, it is suggested that activation of  $\alpha_1$ - and  $\alpha_2$ -adrenoceptors induce the contraction, activation of  $\beta$ -adrenoceptors induce the relaxation, and NE-induced relaxation is mainly due to activation of  $\beta$ -adrenoceptors. Also it is suggested that denudation of endothelium did not influence NE-induced relaxation, but influence Ach-induced contraction in the pig myocardial coronary artery.

\*충남대학교 의과대학 흉부외과학교실

\*Department of Thoracic and Cardiovascular Surgery, College of Medicine, Chungnam National University  
1991년 7월 20일 접수

## I. 서 론

일찌기 혈관평활근에 대한 아세틸콜린(acetylcholine, 이하 Ach로 칭함)의 이완작용은 내피세포에 의존하는데<sup>1-3)</sup> 이러한 Ach의 내피 의존성 이완은 혈관 내피세포에서 유리되는 소위 endothelium-dependent relaxation factor(EDRF)라 불리워지는 물질에 의하여 이루어진다는 사실<sup>4)</sup>이 알려져 왔다. 근래에 EDRF는 수용체의 활성화나 신전(stretch)과 같은 생리적 자극<sup>5)</sup>에 의하여 유리되며 이 물질은 nitric oxide와 생물학적 특성이 동일한 물질로서<sup>6)</sup> 평활근 세포의 guanylate cyclase를 활성화시킴으로써 세포내 cGMP 농도를 증가시켜 혈관 평활근을 이완시키는 것으로 알려져 있다<sup>7)</sup>.

EDRF의 유리를 유발시키는 물질로서 노에피네프린(norepinephrine, 이하 NE로 칭함)은 Ach과 마찬가지로 개와 돼지의 근위관상동맥에서 EDRF를 유리시킨다는 보고<sup>8,9)</sup>가 있다. 그러나 관상순환에서 저항혈관인 심근내 관상동맥에서 NE이 EDRF를 유리시키는지는 잘 알려져 있지 않다. 최근 쥐의 관상동맥에서 EDRF의 유리는 부위에 따라 다른데 근위 관상동맥에서는 EDRF가 유리되나 심근내 관상동맥에서는 유리되지 않는다는 보고<sup>10)</sup>도 있다.

NE이 여러 혈관 평활근에서 수축을 일으키는 물질임은 주지의 사실이다. 그러나 관상동맥에서 NE의 작용은 종에 따라 다르게 나타나는 바 개와 guinea-pig의 관상동맥에서는 수축을 일으키나<sup>11)</sup> 사람이나 돼지의 관상동맥에서는 반대로 이완을 일으킨다<sup>12,13)</sup>. 관상동맥이 NE에 의하여 수축이 일어나는 경우는 NE의  $\alpha$ -수용체에 대한 작용에 의하여<sup>5,8,9)</sup> NE에 의하여 이완이 일어나는 경우는  $\beta$ -수용체에 대한 작용에 의한다는 것<sup>12,13)</sup>은 잘 알려져 있다. 또한 NE과 같은 관상동맥에서도 부위에 따라 다른 작용을 나타낸다는 보고<sup>16)</sup>가 있는데 이러한 NE의 수축 또는 이완작용은  $\alpha$ 수용체와  $\beta$ 수용체의 분포의 다양성에 기인한다<sup>17)</sup>고 알려져 왔다.

그러나 NE이  $\alpha_2$ -수용체에 작용하였을 경우 수축이 일어나는지 이완이 일어나는지는 논란의 대상이 되고 있다. 돼지 관상동맥에서 NE은  $\beta$ -수용체 차단제와  $\alpha_1$ -수용체 차단제가 존재하는 상태에서도 이완을 일으키는데 이는  $\alpha_2$ -수용체에 작용하여 이완을 일으킨다는

보고<sup>8,18)</sup>가 있는 반면 관상동맥에서  $\alpha_2$ -수용체를 자극하였을 경우 평활근은 내피세포와 관계없이 수축을 일으킨다는 보고들<sup>19-21)</sup>도 있다.

따라서 본 연구는 사람 관상동맥과 수축현상이 비슷한 돼지의 심근내 관상동맥을 이용하여 고농도  $K^+$ 과 Ach으로 혈관 평활근을 수축시킨 후 노아드레날린을 포함한 수용체 작용물질(agonist)들과 길항물질들을 이용하여 수축에 미치는 영향을 검토하여 돼지 심근내 관상동맥에서 노아드레날린과 내피세포의 작용을 밝히고자 하였다.

## II. 실험 방법

실험재료로써 도축장에서 도축된 체중 150~200kg 정도의 돼지 관상동맥을 암수 구별없이 사용하였다. 도축되자마자 적출된 돼지 심장에서 좌측 관상동맥의 주행을 따라 심근을 절제하여 차가운 Tris-완충용액(4°C)에 넣어 심근을 실험실로 옮겼다. 실험에 사용할 내경 1~2mm 심근내 관상동맥을 심근으로부터 깨끗이 박리하여 실온에서 1시간동안 산소를 공급하면서 회복시켰다. 혈관 절제용 유리막대 끝에 혈관의 한쪽 끝을 고정하고 돌리면서 45도 방향으로 너비 2mm, 길이 10mm 되게 안과 수술용 가위로 잘라 절편을 만들었다. 근육고정기에 절편 양끝을 이완상태에서 실로 고정한 후 37°C에서 100%산소로 평형을 이룬 Tris-완충 Tyrode 용액(표 1)이 들어있는 실험용기(용량 50ml)에 옮겼다. 근육고정기의 유리선을 장력변환기(F-60, Narco Biosystem)에 연결하고 20분 간격으로

**Table 1.** Chemical Compositions of Tyrode's solution for Measurement of Isometric Tension in the Pig Coronary Artery

A. Tris-Buffered Tyrode's solution(mM)	
NaCl	158
KCl	4
CaCl <sub>2</sub>	2
MgCl <sub>2</sub>	1
Tris	5
Glucose	6
pH	7.4 at 37°C
B. High K <sup>+</sup> , Tris-Buffered Tyrode's solution(mM)	
NaCl	137
KCl	25
Compositions of other salts and pH are same as Tyrode A	

새로운 용액을 갈아주면서 1시간동안 회복시켰다. 이상의 처리가 끝난 후 견인기로서 혈관절편을 전체길이의 10%씩 단계적으로 늘이면서 길이-장력 관계를 관찰하고 최적길이를 결정하였다. 실험용기는 항온순환기로서 물을 순환시켜 37°C를 유지하게 하였으며, 장력의 기록은 장력변환기 및 피지오그래프(MK-IV, Narco Biosystem)를 이용하였다<sup>22)</sup>. 이상의 실험장치를 도 1에 나타내었다.

혈관 내피세포는 혈관 양쪽을 핀으로 고정된 후 여과지로 3~5번 문질러 제거하였으며 확인은 Ach ( $10^{-6}$ M)으로 혈관 평활근을 수축시킨 후 substance P ( $10^{-8}$ M)<sup>4)</sup>를 투여하여 이완이 일어나지 않는 것을 관찰하는 방법과(도 2) 투사 전자현미경을 이용하여 내피세포가 제거되었음을 확인하였다(도 3). 고농도  $K^{+}$ -수축용액으로는 등장성을 유지하기 위하여 정상

Tyrode용액의  $Na^{+}$ 을 21mM 줄이고 대신  $K^{+}$ 을 21mM 높여 만든 25mM  $K^{+}$  Tyrode용액(표 1)을 사용하였다. 모든 실험은 약물투여가 끝난 후 3회 이상 세척하여 기본장력이 이전 실험으로부터 회복되었음을 확인한 후 다음 실험을 진행하였다. 실험결과의 유의도 검증은 Student t-test로 하였으며 p값이 0.05이하를 유의한 차이로 간주하였다.

본 실험에 사용한 시약은 다음과 같다.

- Acetylcholine chloride(Sigma)
- Clonidine(Sigma)
- Noradrenaline(Sigma)
- Phenylephrine(Sigma)
- Substance P(Sigma)
- Propranolol(Sigma)
- Isoproterenol(Sigma)

### III. 실험 성적

$K^{+}$  농도변화에 따른 관상동맥의 수축을 도 4에 용량반응곡선으로 도시하였다. 도 4에 도시된 바와 같이 관상동맥 평활근은 내피세포가 있는 정상 혈관과 제거된 혈관 모두에서  $K^{+}$  20mM에서 수축을 시작하여 100mM에서 최대수축을 나타냈다. 내피세포가 있는 정상 혈관과 제거된 혈관에서  $K^{+}$  25mM에 의한 수축은 각각  $871 \pm 80$ mg,  $781 \pm 181$  mg이었으며  $K^{+}$  100mM에서는 각각  $1706 \pm 68$ mg,  $1983 \pm 90$  mg으로서 내피세포가 제거된 혈관에서의 수축이 내피세포가 있는 정상 혈관의 수축에 비하여 더 컸으나 통계적으로 유의한 차이는 아니었다( $p > 0.06$ ).

Ach 농도변화에 따른 관상동맥의 수축을 도 5에 용

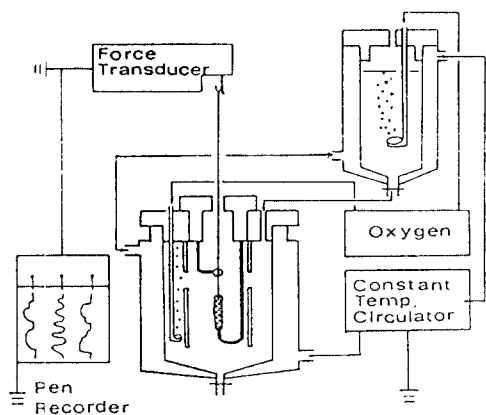


Fig. 1. Experimental set-up for measurement of the isometric tension of the vascular muscle strip.

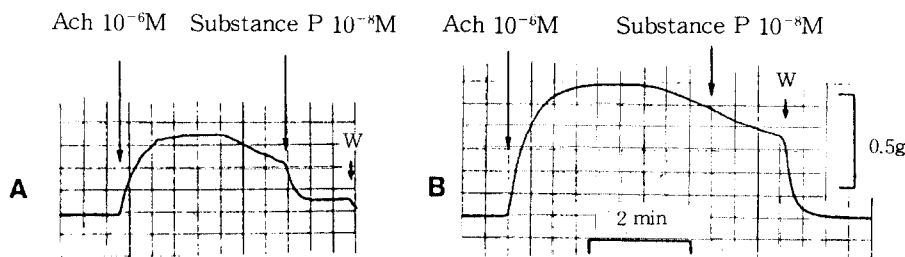
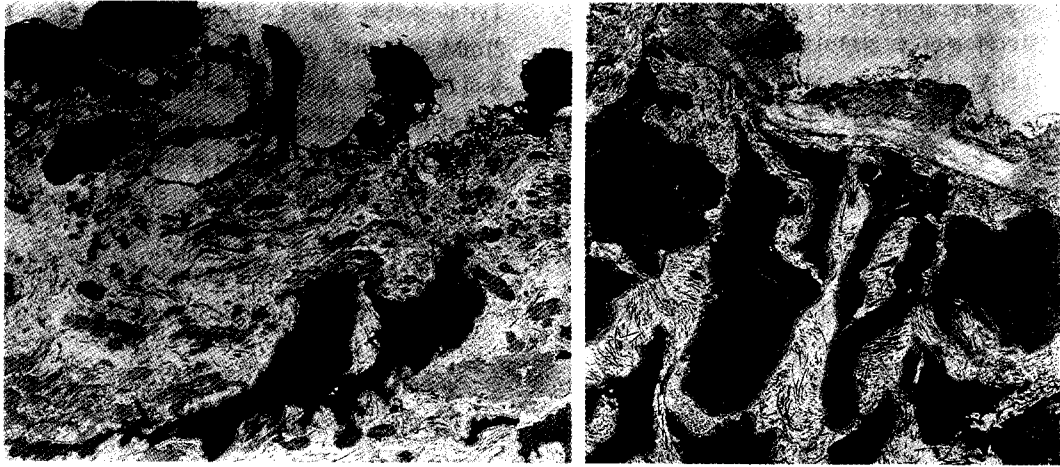
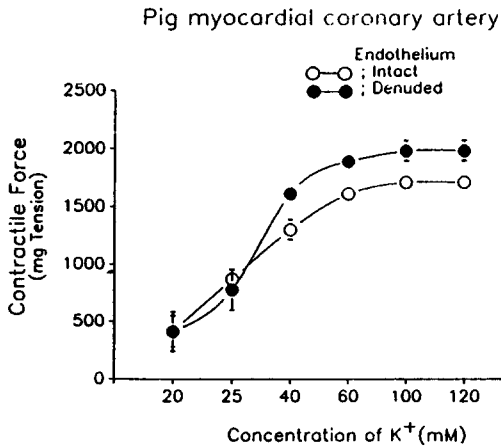


Fig. 2. Effect of substance P on the Ach-induced contraction in the strip of pig myocardial coronary artery. In intact endothelium, Ach ( $10^{-6}$ M)-induced contraction was relaxed by substance P ( $10^{-8}$ M) (A). In denuded endothelium, Ach ( $10^{-6}$ M)-induced contraction was not relaxed by substance P ( $10^{-8}$ M) (B).



**Fig. 3.** Transmission electron micrographs ( $\times 3,000$ ) of pig myocardial coronary artery with intact endothelium(left) and denuded endothelium(right). In the left panel, endothelial cells(E) and connective tissues and smooth muscle(S) were observed. In the right panel, endothelial cells were not observed. Endothelium was removed by gently rubbing 3 to 5 times with a filter paper

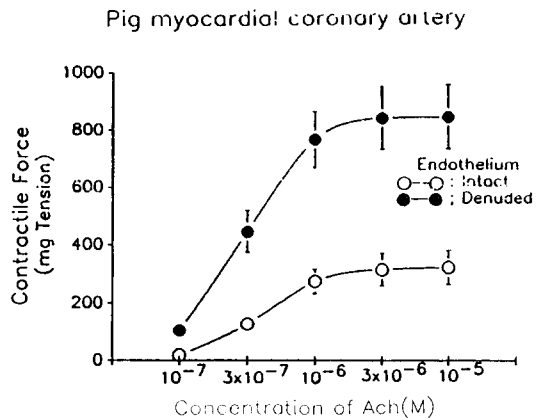


**Fig. 4.** Dose-response curves of K<sup>+</sup> in the strips of pig myocardial coronary arteries with intact endothelium( $\circ-\circ$ ) and denuded endothelium( $\bullet-\bullet$ ). Ordinate: Contractile force was expressed as mg tension. Each point shows the means( $n=5$ ) and vertical lines are S.E.

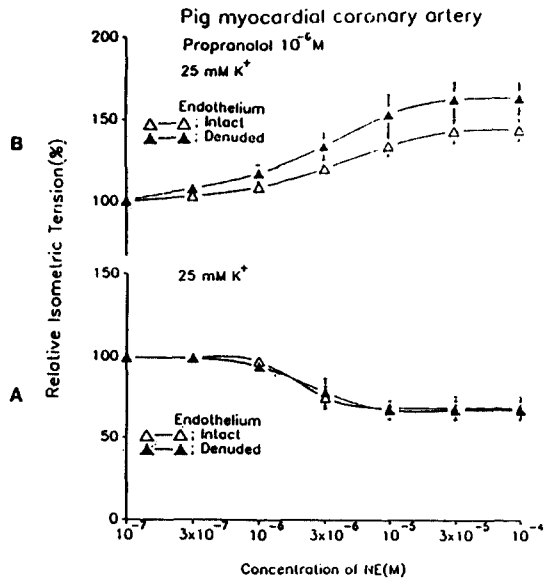
량반응곡선으로 도시하였다. 도 5에 도시된 바와 같이 내피세포가 있는 정상 혈관과 제거된 혈관 모두에서 Ach  $10^{-7}$ M에서 수축이 시작되었으며  $10^{-5}$ M에서 최대수축을 나타냈다. 내피세포가 있는 정상 혈관과 제거된 혈관에서 Ach  $10^{-6}$ M에 의한 수축은 각각  $275 \pm 41$ mg,  $770 \pm 98$  mg이었으며, Ach  $10^{-5}$ M에서는 각각  $323 \pm 58$ ,  $850 \pm 111$  mg으로서 내피세포가 제거된 혈관

에서 Ach에 대한 수축이 내피세포가 있는 정상 혈관에 비하여 현저하게 컸다.

관상동맥에서 NE에 의한 혈관 이완작용에 혈관 내피세포가 어떠한 영향을 나타내는지를 알아보기 위하여 내피세포가 있는 정상 혈관과 제거된 혈관에서 K<sup>+</sup> 25mM로 수축을 일으킨 후 NE을 농도별로 투여하여 반응을 관찰하고 그 수축을 K<sup>+</sup> 25mM에서의 수축에



**Fig. 5.** Dose-response curves of Ach in the strips of pig myocardial coronary arteries with intact endothelium( $\circ-\circ$ ) and denuded endothelium( $\bullet-\bullet$ ). Ordinate: Contractile force was expressed as mg tension. Each point shows the means( $n=6$ ) and vertical lines are S.E.



**Fig. 6.** Dose-response curves(A) of NE on 25mM K<sup>+</sup>-induced contraction and Dose-response curves(B) of NE after the pretreatment of propranolol on 25mM K<sup>+</sup>-induced contraction in the strips of pig myocardial coronary arteries with intact endothelium(△-△) and denuded endothelium(▲-▲). Ordinate : Percentage of maximal tension by 25mM K<sup>+</sup>. Each point shows the means(n=6) and vertical lines are S.E..

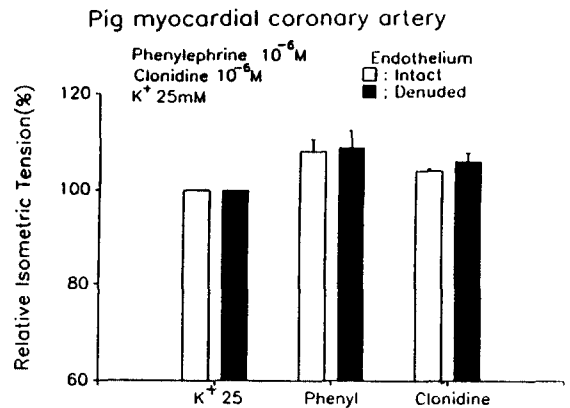
대한 백분율로 환산하여 도 6A에 용량반응곡선으로 도시하였다. 도 6에서 보는 바와 같이 K<sup>+</sup> 25mM에 의한 수축은 내피세포가 있는 정상 혈관과 제거된 혈관에서 모두 NE 10<sup>-6</sup>M에서 이완이 시작되어 NE 3×10<sup>-5</sup>M에서 최대를 보였다. NE 3×10<sup>-5</sup>M에서 내피세포가 있는 정상 혈관과 제거된 혈관에서 수축은 각각 68.0±4.7, 73.4±5.8%로서 양자간에 유의한 차가 없었다(p>0.4)(도 6A).

NE에 의한 혈관 평활근의 이완이 β-수용체의 기능에 의한 것인지를 규명하고자 β-수용체 차단제인 propranolol(10<sup>-6</sup>M)을 전처치하고 K<sup>+</sup> 25mM로 수축시킨 후 NE를 농도별로 투여하여 수축을 관찰하고 이 수축을 K<sup>+</sup> 25mM에 의한 수축의 백분율로 환산하여 용량반응곡선을 도 6B에 도시하였다. 도 6B에서 도시한 바와 같이 propranolol(10<sup>-6</sup>M)이 전처치된 경우 NE 3×10<sup>-7</sup>M에서 수축은 증가하기 시작하여 3×10<sup>-5</sup>M에서 최대를 보였다. NE 3×10<sup>-5</sup>M에서 내피세

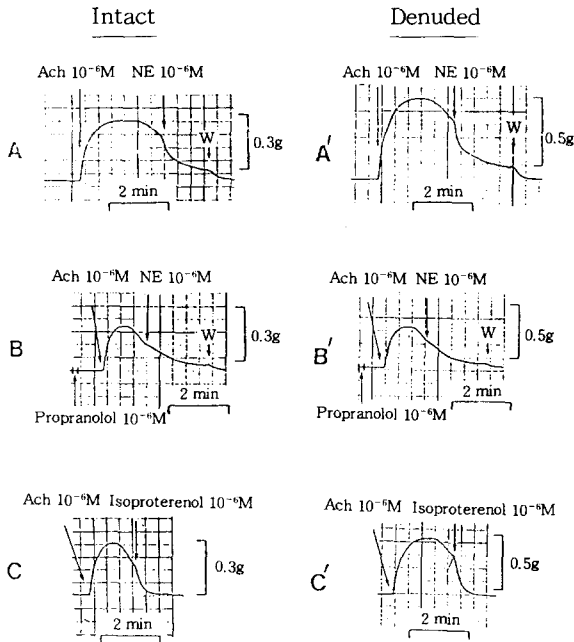
포가 있는 정상 혈관과 제거된 혈관의 수축은 각각 141.2±7.6, 160.5±5.6%로서 내피세포가 없는 경우에 있는 경우보다 컸으나 유의한 차는 아니었다(p>0.06).

관상동맥에서 β-수용체 차단 후 NE에 의한 수축의 증가가 α-수용체에 대한 작용인지를 규명하고자 내피세포가 있는 정상 혈관과 제거된 혈관에서 K<sup>+</sup> 25mM으로 수축시킨 후 α<sub>1</sub> 그리고 α<sub>2</sub>-수용체 작용물질인 phenylephrine과 clonidine을 각각 투여하여 각각의 수축을 K<sup>+</sup> 25mM에 의한 수축의 백분율로 환산하여 도 7에 도시하였다. 도 7에서 보는 바와 같이 phenylephrine(10<sup>-6</sup>M)은 내피세포가 있는 정상 혈관과 제거된 혈관 모두에서 K<sup>+</sup> 25mM에 의한 수축을 증가시켜 각각 108.0±2.1%, 109.0±3.5%이었으나 양자간에 유의한 차이는 없었으며(p>0.8) clonidine(10<sup>-6</sup>M)에서도 마찬가지로 K<sup>+</sup> 25mM에 의한 수축의 각각 104.1±0.9%, 106.1±1.7%로서 수축이 증가하였으나 양자간에 차이는 없었다(p>0.3).

관상동맥에 대한 NE의 이완기전을 더 알아보기 위하여 Ach으로 수축시킨 혈관에서 NE의 작용기전을 내피세포가 있는 정상 혈관과 제거된 혈관에서 관찰하였다(도 8). 도 8A, A'에서 보는 바와 같이 Ach(10<sup>-6</sup>M)에 의한 수축은 장력을 유지하지 못하고 서서



**Fig. 7.** Effects of phenylephrine, α<sub>1</sub>-agonist, and clonidine, α<sub>2</sub>-agonist, on 25mM K<sup>+</sup>-induced contraction in the strips of pig myocardial coronary arteries with intact endothelium(□-□) and denuded endothelium(■-■). Phenylephrine(10<sup>-6</sup>M) and clonidine(10<sup>-6</sup>M) increased 25mM K<sup>+</sup>-induced contraction. Ordinate : Percentage of maximal tension by 25mM K<sup>+</sup>. Each bar shows the means(n=5) and vertical lines are S.E..



**Fig. 8.** Effect of NE, the pretreatment of propranolol,  $\beta$ -antagonist, isoproterenol,  $\beta$ -agonist, on the Ach-induced contraction in the strips of pig myocardial coronary arteries with intact endothelium (A, B, C) and denuded endothelium (A', B', C').  
W : Washout

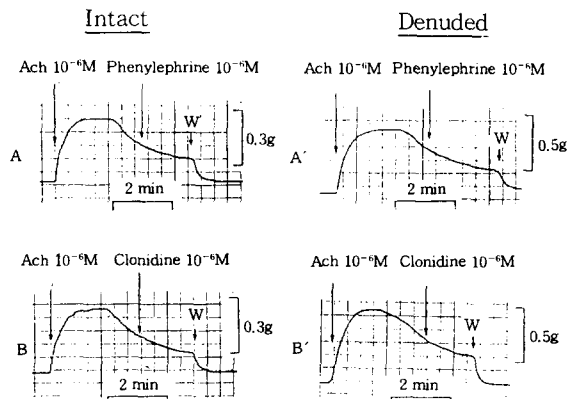
히 감소하는데 NE(10<sup>-6</sup>M)을 투여할 경우 급격히 이완을 나타냈으며 내피세포가 있는 정상 혈관(A)과 제거된 혈관(A') 모두에서 이완의 정도는 비슷하였다. Ach에 의한 수축에 NE의 이완작용이  $\beta$ -수용체의 작용에 의하여 나타나는지를 규명하고자  $\beta$ -수용체 차단제인 propranolol(10<sup>-6</sup>M)로 전처리한 후 Ach으로 수축시키고 NE(10<sup>-6</sup>M)를 투여하였으며(도 8B, B'), 또한 Ach으로 관상동맥을 수축시킨 후  $\beta$ -수용체 작용물질인 isoproterenol(10<sup>-6</sup>M)을 투여하였다(도 8C, C'). 도 8B, B'에 도시된 바와 같이 propranolol(10<sup>-6</sup>M)을 전처리한 후 Ach에 의한 수축에 NE(10<sup>-6</sup>M)를 투여하였을 경우 NE에 의한 이완은 내피세포가 있는 정상 혈관(B)와 제거된 혈관(B')에서 모두 억제되었다. Ach에 의한 수축은 내피세포가 있는 정상 혈관(C)와 제거된 혈관(C') 모두에서 isoproterenol(10<sup>-6</sup>M)에 의하여 이완되었으며 이완되는 정도도 비슷하였다.

$\beta$ -수용체를 차단할 경우 NE에 의한 이완 억제  $\alpha$ -

수용체에 작용하여 일어나는지를 알아보기 위하여 Ach(10<sup>-6</sup>M)으로 수축시킨 후  $\alpha_1$ - 또는  $\alpha_2$ -수용체 작용물질인 phenylephrine과 clonidine을 투여하였다(도 9). 도 9에서 보는 바와 같이 Ach에 의한 수축은 내피세포가 있는 정상 혈관(A, B)과 내피세포가 제거된 혈관(A', B') 모두에서 phenylephrine(10<sup>-6</sup>M)에 의하여 뚜렷히 영향받지 않았으며 clonidine(10<sup>-6</sup>M)에 의하여도 마찬가지였다.

관상동맥에서 tyramine에 의하여 유리되는 신경전달물질이 수축에 어떠한 영향이 있는지를 알아보기 위하여 K<sup>+</sup> 25mM로 수축시킨 후 tyramine을 투여하였다(도 10). 그 결과 tyramine(10<sup>-4</sup>M)은 K<sup>+</sup> 25mM에 의한 수축을 부가적으로 증가시켰다.

Tyramine에 의한 수축의 증가가 어떠한 신경전달물질의 유리에 의한 것인지 알아보기 위하여 K<sup>+</sup> 25mM에 의한 수축에 atropine(10<sup>-6</sup>M)과 phentolamine(10<sup>-6</sup>M)을 전처리한 후 tyramine을 투여하여 각각의 K<sup>+</sup> mM에 의한 최대수축의 백분율로 환산하여 도 11에 도시하였다. 도 11에서 보는 바와 같이 K<sup>+</sup> 25mM에 의한 수축에 tyramine(10<sup>-4</sup>M)만 투여한 경우 내피세포가 있는 정상 혈관과 제거된 혈관에서 각각 132.4 $\pm$ 3.7%, 124.8 $\pm$ 3.2%이었다. K<sup>+</sup> 25mM에 의한 수축에 phentolamine(10<sup>-6</sup>M)을 전처리한 경우 tyramine에 의한 수축은 내피세포가 있는 정상 혈관과 없는 경우 각각 126.2 $\pm$ 3.4%, 120.7 $\pm$ 4.6%이었으며, atropine(10<sup>-6</sup>M)을 전처리한 경우 tyramine에



**Fig. 9.** Effects of phenylephrine,  $\alpha_1$ -agonist, and clonidine,  $\alpha_2$ -agonist, on the Ach-induced contraction in the strips of pig myocardial coronary arteries with intact endothelium (A, B) and denuded endothelium (A', B').  
W : Washout

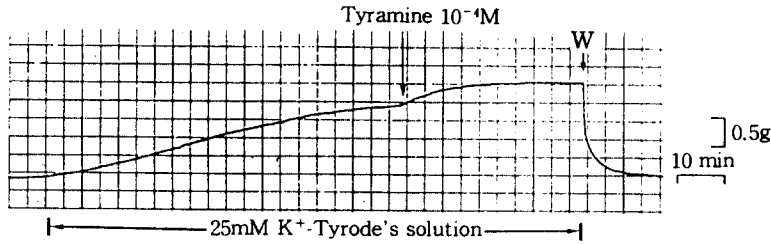


Fig. 10. Effect of tyramine on the 25mM K<sup>+</sup>-induced contraction in the strip of pig myocardial coronary artery. 25mM K<sup>+</sup>-induced contraction was further increased by tyramine(10<sup>-4</sup>M). W : Washout

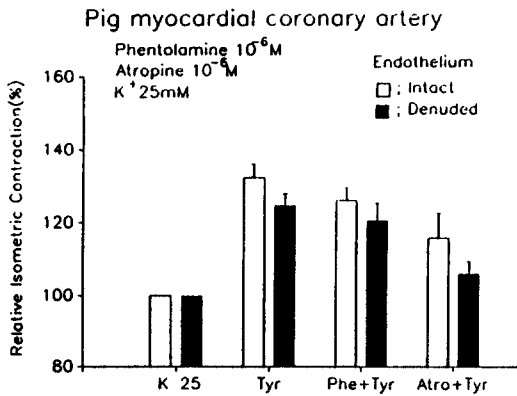


Fig. 11. Effects of tyramine after the pretreatment of phentolamine,  $\alpha$ -antagonist, and atropine, muscarinic receptor blocker, on 25mM K<sup>+</sup>-induced contraction in the strips of pig myocardial coronary arteries with intact endothelium(□-□) and denuded endothelium(■-■). Ordinate : Percentage of maximal tension by 25mM K<sup>+</sup>. Each bar shows the means(n=6) and vertical lines are S.E..

의한 수축은 내피세포가 있는 정상 혈관과 제거된 혈관에서 각각 115.9±6.7%, 106.2±3.2%이었는데 이는 tyramine에 의한 수축이 phentolamine에 의해 차단되는 정도보다 큰 것이었다. 그러나 내피세포 유무에 따른 차이는 양자 모두에서 내피세포가 있는 정상 혈관이 내피세포가 제거된 혈관보다 억제정도는 미약하였으나 유의한 차는 아니었다(p>0.2).

#### IV. 고 찰

혈관 평활근에 대한 Ach의 이완작용은 내피세포에

의존하는데<sup>1-3)</sup> 이러한 Ach의 내피의존성 이완은 혈관내피세포에서 유리되는 endothelium-dependent relaxation factor(EDRF)에 의한다는 사실<sup>4)</sup>이 알려져 왔다.

Gräser등<sup>23)</sup>은 돼지 관상동맥에서 Ach은 내피 세포의 유무에 관계없이 일정한 수축을 일으키는데 이는 Ach이 직접 혈관 평활근에 작용하여 일어나는 것이라고 하였으며 Harasawa등<sup>24)</sup>도 동일한 보고를 한 바 있다. 그러나 Myes등<sup>25)</sup>은 돼지 관상동맥에서 Ach에 의한 수축은 내피세포가 제거된 혈관에서 내피세포가 있는 정상 혈관보다 크게 나타나는데 이는 Ach이 내피세포에 endothelium-dependent relaxing factor(EDRF)를 분비하여 수축반응을 약화시킨다고 보고 하였다. 본 연구에서 Ach에 의한 수축은 내피세포가 제거된 혈관에서 내피세포가 있는 정상 혈관보다 크게 나타났다(도 5). 이는 Ach이 내피세포에 작용할 경우 다른 혈관과 마찬가지로 EDRF를 분비시키는데 내피세포가 제거된 혈관에서는 이러한 이완작용이 없었지 게 되므로 수축이 증가되었던 것으로 생각된다.

관상동맥이 NE에 의하여 수축이 일어나는 경우는 NE이 주로  $\alpha$ -수용체를 통하여 일어나며<sup>11,14,15)</sup> NE에 의하여 이완이 일어나는 경우는 주로  $\beta$ -수용체에 작용하여 관상동맥 평활근을 이완시킨다는 사실<sup>12,13)</sup>은 잘 알려져 있다. 또한 NE은 같은 관상동맥에서도 부위에 따라 다른 작용을 나타낸다는 보고<sup>16)</sup>가 있는데 이러한 NE의 수축 또는 이완작용은  $\alpha$ -수용체와  $\beta$ -수용체의 분포의 다양성에 기인한다<sup>17)</sup>고 알려져 왔다.

Angus등<sup>18)</sup>은 돼지 관상동맥에서 NE는  $\beta$ -수용체 차단제와  $\alpha_1$ -수용체 차단제가 존재하는 상태에서도 이완을 일으키는데 이는 내피세포의  $\alpha_2$ -수용체에 작용하여 이완을 일으킨다고 보고하였으며 Sohngen등<sup>26)</sup>도 동

일한 보고를 한 바 있다. 그러나 개의 관상동맥에서 NE는  $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$ -수용체에 작용하여 수축을 일으킨다고 보고하였으며<sup>15,27,28)</sup>  $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$ -수용체에 의한 수축은 내피세포의 제거에 의해 증가된다는 보고도 있다<sup>29,30)</sup>.

본 연구에서 NE의 이완작용이 어떠한 수용체에 작용하여 나타나는지를 규명하고자 하였다. 그 결과 NE은 심근내 관상동맥을 이완시켰으며(도 6A, 도 8A, A') 이러한 이완은  $\beta$ -수용체 차단제인 propranolol의 전처치에 의하여 차단되었다(도 6B, 도 8B, B'). 또한  $K^+$  25mM으로 수축시킨 후  $\alpha_1$ - 그리고  $\alpha_2$ -수용체 작용물질인 phenylephrine과 clonidine을 투여한 결과 양자 모두는 수축을 증가시켰으나(도 7) Ach에 의한 수축에 phenylephrine과 clonidine은 뚜렷한 영향을 주지 못했다(도 9). 이러한 결과를 종합해 볼때 돼지 심근내 관상동맥에서 NE의 이완작용은 주로  $\beta$ -수용체에 작용하여 나타나며  $\alpha_1$ - 그리고  $\alpha_2$ -수용체는 수축기능을 갖고 있으나 미약한 것으로 사료된다. Ach에 의한 수축은 장력을 유지 못하고 서서히 감소하는데 여기에 phenylephrine과 clonidine이 뚜렷한 영향을 주지 못한 이유는  $\alpha_1$ - 그리고  $\alpha_2$ -수용체 자극에 의한 수축이 미약하기 때문인 것으로 생각된다.

관상동맥에서 NE의 이완작용에 대한 내피세포의 역할에 대해서는 논란이 많다. Cock와 Angus<sup>8)</sup>는 돼지와 사람의 관상동맥에서 내피세포는 수축제에 의한 수축 후 혈관의 긴장도에 영향을 주는데 NE과 5-hydroxytryptamine은 내피세포가 없는 혈관에서 내피세포가 있는 정상 혈관보다 수축의 크기가 큰 것으로 보아 amine계통의 수축물질은 내피세포에서 혈관이완 물질을 유리시킨다고 보고하였다. 그러나 Toda등<sup>20)</sup>은 사람의 관상동맥에서 NE의 이완은 내피세포를 제거해도 수축반응에는 변화가 없어 내피세포에 작용하는 것이 아니라 직접 평활근에 작용하여 이완되는 것이라 하였다.

본 연구에서 NE의 심근내 관상동맥 평활근 이완작용에 대한 내피세포의 영향을 알아보기 위하여 내피세포가 있는 정상 혈관과 없는 혈관에서  $K^+$  25mM 또는 Ach으로 수축을 일으킨 후 NE을 투여한 결과 양자의 이완 정도에는 유의한 차가 없었다(도 6, 8). 또한  $K^+$  25mM과 Ach에 의한 수축 후 phenylephrine과 clonidine에 의한 수축도 내피세포가 있는 정상 혈관이나 없는 혈관 모두 유의한 차가 없었다(도 7, 9). 이는 돼지 심근내 관상동맥에서 내피세포는 NE에 의한 이완

에 아주 미약한 작용을 나타냄을 의미한다. 최근 Nyborg<sup>18)</sup>은 관상동맥의 부위에 따라 내피의존성물질의 유리도 다른데 근위 관상동맥에서는 NE에 의하여 EDRF가 유리되나 심근내 관상동맥에서는 유리되지 않는다고 보고하여 본 실험을 뒷받침하고 있다.

Tyramine은 혈관의 신경말단으로 유입되어 synaptic vesicles에 저장되어 있던 NE을 유리시키는 것으로 알려져 있다<sup>31)</sup>. 이를 근거로 신경말단에서 유리되는 NE의 영향을 알아보기 위하여  $K^+$  25mM에 의한 수축에 tyramine을 투여한 결과  $K^+$  25mM에 의한 수축은 오히려 tyramine에 의하여 수축이 증가되었다. 이는 tyramine에 의하여 유리되는 신경전달물질은 NE이외에 다른 신경전달물질<sup>32,33)</sup>일 가능성을 암시한다.

Tyramine에 의하여 유리되는 신경전달물질이 NE인지 아닌지 Ach인지를 알아보기 위하여  $K^+$  25mM 수축에 phentolamine과 atropine을 전처치한 후 tyramine을 투여한 결과 phentolamine에 차단되는 정도보다 atropine에 차단되는 정도가 컸으나 완전히 차단되지는 않았다. 이는 tyramine에 의하여 유리되는 신경전달물질은 NE보다는 Ach 또는 그 외의 다른 물질이라고 생각되나 더욱 더 연구되어야 할 과제로 생각된다.

이상의 결과로 보아 돼지 심근내 관상동맥에서  $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$ -수용체는 수축작용,  $\beta$ -수용체는 이완작용을 나타내는데 NE은 주로  $\beta$ -수용체를 통하여 이완을 나타낸다. 내피세포의 제거는 Ach에 의한 수축을 증가시키나 NE에 의한 이완에는 영향을 나타내지 못하는 것으로 생각된다.

## V. 결 론

돼지 심근내 관상동맥의 고 $K^+$  및 아세틸콜린 수축에 미치는 노아드레날린과 내피세포의 작용을 규명하였다. 관상동맥 절편을 Tris-완충 Tyrode용액에서 고농도  $K^+$ 과 Ach으로 수축을 일으킨 후 각 수용체의 작용물질과 길항제를 투여하여 수축을 검토한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 고농도  $K^+$ 에 의한 수축은 농도의존적으로 증가하였으며 내피세포가 제거된 혈관에서의 수축이 정상 혈관에 비하여 약간 큰 수축을 보였으나 유의한 차는 아니었다( $p > 0.06$ ).
2. Ach에 의한 수축은 농도의존적으로 증가하였으



며 내피세포가 제거된 혈관에서의 수축이 정상혈관에 비하여 유의하게 컸다( $p>0.05$ ).

3. NE은 고농도  $K^+$  또는 Ach에 의한 수축을 이완시켰다.

4. 고농도  $K^+$  또는 Ach에 의한 수축에서 NE에 의한 이완은 propranolol 전처치에 의하여 차단되었다.

5. Phenylephrine과 clonidine은 고농도  $K^+$ 에 의한 수축을 증가시켰다.

6. NE에 의한 이완과 phenylephrine과 clonidine에 의한 수축에서 내피세포는 수축과 이완에 영향을 주지 못했다.

7. Tyramine은 고농도  $K^+$ 에 의한 수축을 증가시켰으며 이 수축은 atropine에 의해 부분적으로 차단되었다.

이상의 결과로 보아 돼지 심근내 관상동맥에서  $\alpha_1$ - $\alpha_2$ -수용체는 수축작용,  $\beta$ -수용체는 이완작용을 나타내는데 NE은 주로  $\beta$ -수용체를 통하여 이완을 나타낸다. 내피세포의 제거는 Ach에 의한 수축을 증가시키나 NE에 의한 이완에는 영향을 나타내지 못하는 것으로 생각된다.

## REFERENCES

1. Furchgott RF, Zawadzki JV : *Acetylcholine relaxes arterial smooth muscle by releasing a relaxing substance from endothelial cells.* *Fed Proc*, 39 : 581, 1980
2. Furchgott RF, Zawadzki JV : *The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine.* *Nature*, 288 : 373, 1980
3. Furchgott RF : *The requirement for endothelial cells in the relaxation of arteries by acetylcholine and some other vasodilators.* *Trends Pharmacol Sci*, 2 : 173, 1981
4. Furchgott RF : *Brief review : Role of endothelium in responses of vascular smooth muscle.* *Circ Res*, 53 : 557, 1983
5. Rubanyi GM : *Endothelium-dependent pressure-induced contraction of isolated canine carotid arteries.* *Am J Physiol*, 255 : H783, 1988
6. Palmer RMJ, Ferrige AG, Moncada S : *Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor.* *Nature*, 327 : 524, 1987
7. Rapoport RM, Murad F : *Agonist-induced endothelium-dependent relaxation in rat thoracic aorta may be mediated through cGMP.* *Circ Res*, 52 : 352, 1983
8. Cock TM, Angus JA : *Endothelium dependent relaxation of coronary arteries by noradrenaline and serotonin.* *Nature*, 305 : 627, 1983
9. Banitt PF, Myers PR, Harrison DG : *Effects of norepinephrine on the coronary microcirculation.* *Circulation(Suppl II)*, 78(4) : II - 168, 1988
10. Nyborg NCB : *Action of noradrenalin on isolated proximal and distal coronary arteries of rat : selective release of endothelium-derived relaxing factor in proximal arteries.* *Br J Pharmacol*, 100 : 552, 1990
11. Rimele TJ, Rooke TW, Aarhus LL, Vanhoutte PM : *Alpha-1 adrenoceptors and calcium in isolated canine coronary arteries.* *J Pharmacol Exp Ther*, 226 : 668, 1983
12. Ito Y, Kitamura K, Kuriyama H : *Effects of acetylcholine and catecholamines on the smooth muscle cell of the porcine coronary artery.* *J Physiol*, 294 : 595, 1979
13. Cohen RA, Shepherd JT, Vanhoutte PM : *Effects of the adrenergic transmitter on epicardial coronary arteries.* *Fed Proc*, 43 : 2862, 1984
14. Cohen RA, Shepherd JT, Vanhoutte PM : *Pre-junctional and postjunctional actions of endogenous norepinephrine at the sympathetic neuroeffector junction in canine coronary arteries.* *Circ Res*, 52 : 16, 1983
15. Holtz J, Saeed M, Sommer O, Bassenge E : *Norepinephrine constricts the canine coronary bed via postsynaptic alpha2-adrenoceptors.* *Eur J Pharmacol*, 82 : 199, 1982
16. Malindzak GS : *Differential segmental response characteristics of the coronary vasculature.* In *The coronary artery.* Canberra : Croom Helm, London, p241, 1982
17. Nakayama K, Osol G, Halpern W : *Reactivity of isolated porcine coronary resistance arteries to cholinergic and adrenergic drugs and transmural changes.* *Circ Res*, 62 : 741, 1988
18. Angus JA, Cock TM, Satoh K : *Alpha2-adrenoceptors and endotheliumdependent relaxation in canine large arteries.* *Br J Pharmacol*, 88 : 767,

1986

19. van Zwieten PA, JCA, van Meel, Timmermans PBMWM : *Calcium antagonists and alpha2-adrenoceptors: possible role of extracellular calcium ions in alpha2-adrenoceptor-mediated vasoconstriction. J Cardiovasc Pharmacol, 4: S273, 1983*
20. Toda N : *Alpha-adrenoreceptor subtypes and diltiazem actions in isolated human coronary arteries. Am J Physiol, 250: H718, 1986*
21. Longhurst JC : *Coronary arteriolar vasoconstriction in myocardial ischemia: reflexes, sympathetic nervous system, catecholamine. Eur Heart J, 11 (Suppl): B43, 1990*
22. Chang SJ, Kim SH, Jeon BH, Park HG : *Effects of H<sup>+</sup> on the contraction induced by various agonists in the renal artery of a rabbit. Korean J Physiol, 24(1): 161, 1990*
23. Gräser T, Leisner H, Tiedt N : *Absence of role of endothelium in the response of isolated porcine coronary arteries to acetylcholine. Cardiovasc Res, 20: 299, 1986*
24. Harasawa Y, Kimura M, Ohno Y, Hayashi S : *Coronary endothelium is responsive to bradykinin and arachidonate but not to acetylcholine. Arch Int Pharmacodyn, 302: 196, 1989*
25. Myers PR, Banitt PF, Guerra R, Jr, Harrison DG : *Acetylcholine-induced vasoconstriction in porcine coronary microvessels: Modulation by the endothelium (Abstract). FASEB, J2: A1481, 1988*
26. Sohngen W, Windbury MM, Kitzen JM, Ventura A, Lucchesi BR : *The mechanism for the clonidine-induced coronary artery dilatation in the canine heart. J Cardiovasc Pharmacol, 12: 689, 1988*
27. Heusch G, Deussen A, Schipke J, Thamer V : *Alpha1 and alpha2-adrenoceptor-mediated vasoconstriction of large and small canine coronary arteries in vivo. J Cardiovasc Pharmacol, 6: 961, 1984*
28. Kelley KO, Freigl EO : *Segmental alpha-receptor mediated vasoconstriction in the canine coronary circulation. Circ Res, 43(6): 908-917, 1979*
29. Carrier GO, White RE : *Enhancement of alpha-1 and alpha-2 adrenergic agonist-induced vasoconstriction by removal of endothelium in rat aorta. J Pharmacol Exp Ther, 232: 682, 1985*
30. Egleme C, Godfraind T, Miller RC : *Enhanced responsiveness of rat isolated aorta to clonidine after removal of the endothelial cells. Br J Pharmacol, 81: 16, 1984*
31. Burn JH, Rand MJ : *The action of sympathomimetic amines in animals treated with reserpine. J Physiol(Lond), 144: 314, 1958*
32. Nilsson H : *Different nerve responses in consecutive sections of the arterial system. Acta Physiol Scand, 121: 353, 1984*
33. Sjöblom-Widfeldt N, Gustafsson H, Nilsson H : *Transmitter characteristics of small mesenteric arteries from the rat. Acta Physiol Scand, 138: 203, 1990*