

## 순환계에서 Nitric Oxide의 생리-병리학적 역할과 그 임상적 의의

### Nitric Oxide: The Pathophysiological Roles and Clinical Implications in Circulatory System

영남대학교 의과대학 약리학교실

이 광 윤

#### 서 론

혼한 대기오염물질이며<sup>1)</sup> 담배연기에 포함된 수많은 화학물질 중의 하나인<sup>2)</sup> nitric oxide(NO)는 독성을 가진 매우 불안정한 기체이며, 고농도에서는 세포의 기질적 손상을 초래하는 free radical의 하나로서 최근 생명과학분야에서 크게 주목을 받고 있다. 1996년 11월 30일 현재 Index medicus에 등재된 NO 관련 논문(Dialog database, 1965년 이후 발표된 것)은 총 12,937편인데, NO의 생합성과 관련된 논문은 1981년부터 1986년 사이에 10편 정도가 발표되었으나, 그후 5년 동안 무려 500편이 넘는 연구논문이 발표되어 이 물질의 생리적 역할에 관한 관심도의 증가추세를 단적으로 말해주고 있다.

최근에 더욱 폭발적으로 성행하는 NO의 연구는 1980년대의 몇가지 발견으로 인하여 수많은 학자들의 관심을 끌게 된 바, 이는 크게 세가지 독립된 흐름을 근간으로 하고 있다. 첫째, Nitrosamines와 carcinogenesis 사이의 연관성에 관한 흥미로서, 포유류의 세포들이 L-arginine 대사의 결과 화학적 활성(반응성)을 가진 질소산화물을 산생한다는 관찰 결과가 있다.<sup>3)</sup> 둘째, 활성화

된 macrophage가 cytotoxic 또는 cytostatic action을 하기 위해서는 L-arginine을 필요로 한다는 사실<sup>4)</sup>과 NO가 활성화된 macrophage와 유사한 세포독성을 나타내고 NO scavenger는 macrophage의 세포독작용을 차단한다는 보고<sup>5)</sup>로서 면역학적인 측면에서도 흥미를 끌고 있다. 셋째, 혈관평활근을 이완시키는 효현제의 작용이 혈관내피세포와 밀접한 관련이 있는 경우가 있으며, 질산화물 혈관확장제의 작용은 이들 분자로 부터 유리된 NO가 guanylate cyclase를 활성화시키고 이로서 산생된 cGMP가 평활근세포를 이완시킨다는 보고가 있었고,<sup>6)</sup> Furchgott와 Zawadzki<sup>7)</sup>는 아세틸콜린에 의한 혈관평활근 이완이 반드시 내피세포의 존재를 전제로 하며, 이때 내피세포에서 유리되는 내피성이완인자(endothelium-dependent relaxing factor; EDRF)가 NO일 것이라고 추정하였다.

위와 같은 연구보고들을 바탕으로 많은 연구가 진행되고 있는 바, 결국 NO는 생체에서 여러가지 생리-생화학적 현상의 messenger molecule로서 mediator, neurotransmitter 또는 regulator 등으로 다양하게 작용함이 밝혀지고 있다.<sup>8)</sup> 즉 blood vessels, platelet function, hepatocyte respiratory function, septic shock, penile erectory function,

pulmonary function, G-I tract, immune system, pathogen suppression 등에서 그 작용은 널리 알려져 있다. 그러나 어디에서건 과량이 존재할 때는 오히려 정상세포의 손상을 초래할 수 있어 stroke가 일어났을 때의 neurotoxicity나 패혈증시의 급격한 혈압감소의 원인이 되기도 한다.<sup>10)</sup>

이들의 목적은 생체에서의 NO 산생에 관한 연구보고의 대략을 개관하고, 중추신경계, 폐, 심장, 신장 등 주요장기의 순환과 전신의 말초순환에서 NO가 관여하는 생리-병리적 현상들을 종합함으로써, 혈관운동과 직결된 주요장기의 질병치료에 접근하는 하나의 경로로서 NO 및 NOS에 연관된 치료수단의 임상적 의의를 저울질 해보는데 있다.

### Nitric Oxide의 합성

조직세포에서의 NO산생은 nitric oxide synthase(NOS)에 의해 촉매되며 인체의 NOS는 크게 세가지로 분류되는데, brain form(bNOS 또는 NOS I), inducible form(iNOS 또는 NOS II) 및 endothelial form(eNOS 또는 NOS III)이 그것이다.<sup>11)</sup> 그중 bNOS는 nNOS(neuronal form)라고도 하며, eNOS와 함께 cNOS(constitutive form)로 분류되기도 하는데, 이는 세포에서 그 생리적인 요구나 substrate의 양에 관계없이 일정하게 유지하고 있는 효소라는 뜻이며, iNOS는 inducible이라는 뜻으로 간장세포나 대식세포 또는 혈관평활근등에서 cytokine이나 미생물 또는 그 대사산물 등에 의하여 활성화되어 대량의 NO를 지속적으로 산생할 수 있는 형태의 NOS를 말한다.

실제로 위의 세가지 NOS들은 그 특성이 상이하다. 즉 내피세포의 eNOS는 135kDa이며,<sup>12)</sup> 세포막의 내면에 부착되어 있으면서<sup>13)</sup> 세포내 칼슘이

온농도의 증가로 인하여 활성화된다. 이는 대개 constitutive NOS로 작용하므로 ecNOS라고도 부른다. 신경세포의 bNOS는 168kDa이며,<sup>14)</sup> 비콜린성-비아드레날린성 신경세포에서 칼슘-의존적으로 NO를 산생한다. 흥미로운 것은 이 bNOS가 뇌세포에 보다 골격근세포에 더욱 풍부히 존재한다는 사실이다.<sup>15)</sup> 이 또한 constitutive의 특성이 있으므로 ncNOS로도 불리운다. 주로 대식세포에서 발견되는 iNOS는 130 kDa로서 세균 내독소나 cytokine에 의해 유도되며 칼슘과는 무관하다.<sup>16)</sup>

이와 같이 각각 특성이 다른 세가지 NOS이지만 각 장기에 널리 분포되어 있는 NOS들의 간편한 개관을 위하여 cNOS와 iNOS로 구분하여 표1에 간추려 보았다.

Table 1. Cellular distribution of constitutive and inducible isoforms of nitric oxide synthase

Cell of Origin	cNOS	iNOS
platelets	+	
Lymphocytes		+
Leukocytes	+	+
Macrophages		+
Endothelium	+	+
Nascular smooth muscle cells		+
Endomyocardium		+
Myocardium		+
Hepatocytes		+
Kupffer cells		+
Pancreatic islet $\beta$ -cells	+	
Neurons	+	
Glial cells	+	+
Nonadrenergic/Noncholinergic Neurons		
Gastrointestinal	+	
Pulmonary	+	
Pancreatic	+	
Renal macula densa cells	+	
Carcinoma cells		+

cNOS; constitutive nitric oxide synthase  
 iNOS; inducible nitric oxide synthase  
 -Kuo PC and Schroeder RA, Ann Surg 221, 1995.-

위와 같이 다양한 세포에서 생성되는 NO의 합성과정과 그 운명은 그림1에 도시한 바와 같다. NADPH의 도움을 받은 NO synthase에 의하여 L-arginine이 산소분자와 반응한 후 NO를 유리시키고 L-citrulline으로 변환된다. 합성된 NO는 지용성이 높아 세포막을 쉽게 통과할 수 있으므로 인접한 세포로 이동할 수 있으며, 세포내외에서 짧은 시간내에 산소와 반응하여 nitrite 및 nitrate로 합성되거나 hemoglobin이나 superoxide와 결합한다. 세포내 변화를 초래하는

주요 경로인 guanylate cyclase활성화와 cyclic GMP 증가작용은 평활근 이완을 비롯한 여러가지 반응의 주된 기전이 된다. 화학적 반응성이 매우 높은 free radical인 NO는 사실상 nitrite나 nitrate합성을 위한 intermediate에 불과하다고 해도 과언이 아닐 정도로 반감기가 짧다. 그러나 그 짧은 시간 동안 NO는 매우 다양하고 중요한 생리-병리적 작용을 일으키는데 각 장기에서의 유리 및 작용의 대략을 살펴보면 다음과 같다.

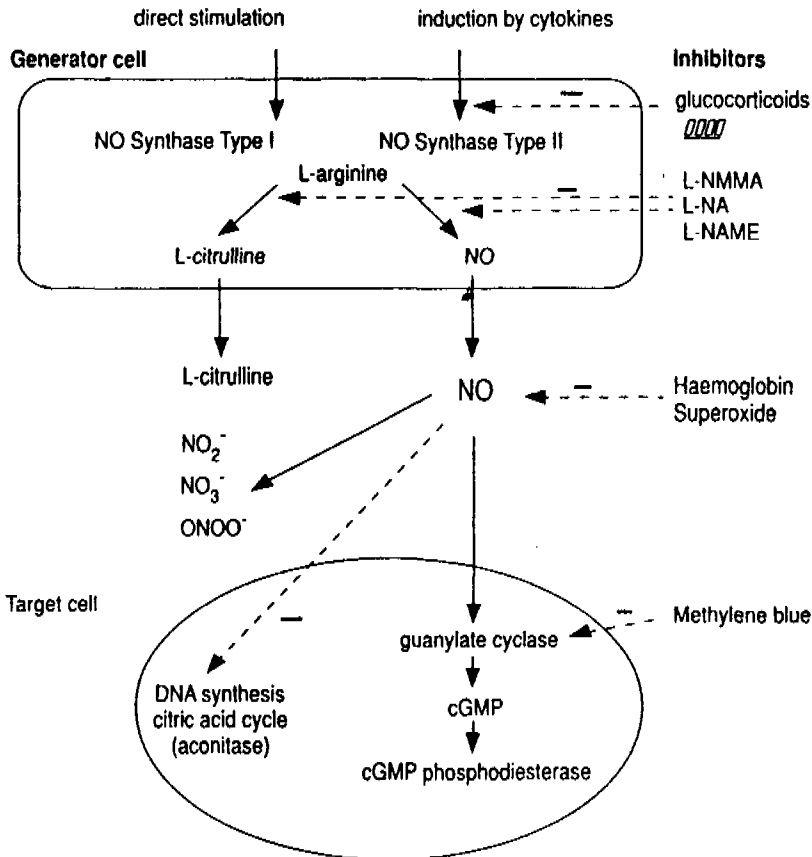


Fig. 1. Diagram of the L-arginine-dependent nitric oxide synthase pathway. NO itself inhibits DNA synthesis. Glucocorticoids inhibits NOS II, and certain L-arginine analogs(L-NMMA, L-NA, L-NAME)inhibits both NOS I and NOS II. Hemoglobin and superoxide inhibits NO, and methylene blue inhibits guanylate cyclase. -Jorens PG, et al. Eur Respir J, 6;259, 1993-

## 중추신경계

중추신경계에서 NO가 신경전달물질로 작용한다는 것은 1988년 Garthwait 등<sup>17)</sup> 등에 의해 처음으로 제안되었는데, 이들은 NMDA 수용체가 그 표현제에 의해 자극을 받을 때 소뇌의 granule 세포들이 NO를 유리하는 것을 발견하였다. 소뇌의 granule 세포 뿐만 아니라 GABA성 basket세포에도 NOS가 증명되며, 대뇌피질에도 NOS neuron이 존재한다.<sup>18)</sup> Wu 등<sup>19)</sup>은 척수의 손상을 받은 동물에서 척추신경세포내 NOS의 증가를 관찰하였으며, 또 과량의 NO가 유리될 때는 신경세포의 손상을 초래하기도 하는데,<sup>20)</sup> 흰쥐에서 뇌허혈을 유도했을 때, 허혈기에는 NO의 유리가 증가되어 혈관을 확장시켰으나 재관류기에 유리된 NO는 신경세포의 손상을 일으켰다는 보고도 있다.<sup>21)</sup> NO는 뇌신경세포에서 지속적으로 일정량이 유리되는데, 허혈후 재산화 시기에 형성된 superoxide 라디칼(O<sub>2</sub><sup>-</sup>)과 빠른 속도로 결합하여 ONOO<sup>-</sup>를 형성하고(식1), 이는 수소이온(H<sup>+</sup>)과 결합한 후(식2) NO<sub>2</sub>와 강력한 산화제인 OH로 나뉘어진다.(식3)<sup>22)</sup> 이는 재산화 손상엔 NO가 중요한 역할을 한다는 증거인데, 한편 NO는 뇌혈관을 확장시키는 작용도 있다.<sup>23)</sup> 즉 NO는 뇌세포를 보호하는 혈류 개선 작용과 뇌세포를 손상케하는 free radical로서의 작용의 양면성을 지니고 있는 것이다.<sup>24)</sup>

- (1)  $O_2^- + NO \rightarrow ONOO^-$
- (2)  $ONOO^- + H^+ \rightarrow ONOOH$
- (3)  $ONOOH \rightarrow OH + NO_2$

1996년 Zhang 등<sup>25)</sup>은 흰쥐의 중뇌동맥을 폐쇄시킨 흰쥐에서 48시간 후에 iNOS mRNA가 발현하는 것을 관찰하고 iNOS의 선택적 억제제인

aminoguanidine(AMG)이 뇌경색 부위를 26% 정도 감소시키는 것과 이러한 감소가 L-arginine에 의해서 길항되는 것을 관찰하였다. 또 Iadecola 등<sup>26)</sup>은 2시간동안 중뇌동맥을 폐쇄하였다가 풀어준 흰쥐에서 허혈부위 모세혈관과 초기 괴사 조직 및 염증성세포에서 허혈후 12시간에 iNOS mRNA 발현이 최고치에 달하고 이후 4일간 지속되는 것과 AMG를 투여하면 경색부위가 현저히 감소하는 것을 관찰하였다. 결국 이와 같은 최근의 연구보고들은 허혈조직에서는 NO의 세포독작용이 혈관확장작용보다 우세하며, 허혈로 인한 뇌경색을 방지하기 위해서는 iNOS를 억제하는 방향의 치료가 보다 유리할 가능성을 암시하고 있다.

## 호흡기

호흡기에서 NO의 분포나 역할에 대해서는 명확하게 알려지지는 않고 있으나, 사람의 호기에서 내인성 NO를 측정된 결과 약 10 ppb가 발견되었으며,<sup>27,28)</sup> 미숙아나<sup>29)</sup> adult respiratory distress syndrome(ARDS)<sup>30)</sup> 등에서 NO를 흡입시키면 환자의 oxygenation에 도움이 되었다는 보고가 있다. 이러한 결과를 뒷받침하는 보고로서는 Stuart 등<sup>31)</sup>이 NO를 유리하는 nitrovasodilator들과 NO자체가 돼지의 적출 기도평활근을 이완시킴을 관찰한 보고가 있다. 또 기도를 통해 흡입한 NO는 전신적인 혈관확장작용 없이 폐순환만을 선별적으로 개선하는 효과가 있어, 이 부분은 흉부외과 영역에서 매우 유용한 치료방법으로 채택될 수 있다.<sup>32)</sup> 즉 NO가 폐포내에 들어가면 폐포막을 통해 확산되어 폐혈관평활근의 이완을 일으키지만, 혈관평활근을 통과하여 혈관강내로 들어가게 되면 hemoglobin과 결합하게

되어 불활성화 되므로 전신적인 혈압하강은 오지 않는다는 것이다. 이러한 기도평활근과 폐혈관평활근 이완작용은 궁극적으로 폐기능을 향진시키는 결과를 얻을 수 있는 수단이 된다.

한편 NO는 대기오염물질의 하나로서 호흡기에 독작용을 나타내기도 한다. 이는 화석연료의 연소시에 많이 발생하며 담배를 피우는 사람은 매회 400 내지 1000 ppm을 흡입한다고 한다.<sup>32)</sup> 흡입된 NO는 산소와 결합하여 NO<sub>2</sub>가 되는데, 앞서 기술한 바와 같이 NO<sub>2</sub>는 질산을 형성하여 세포의 상해를 유발할 수가 있다.<sup>33)</sup> 실제로 N<sub>2</sub>O 마취중 불순물로 오염된 고농도의 NO와 NO<sub>2</sub>를 함께 흡입한 사람<sup>34)</sup>과 실험동물<sup>35)</sup>에서 치명적인 급성 폐부종과 methemoglobinemia가 관찰된 바 있다.

결국 호흡기에서도 뇌에서와 마찬가지로 NO는 치료작용과 독작용의 양면성을 보이고 있으며, NO의 유리를 조절하는 기전이 기관지천식이나 폐실질의 염증을 수반하는 여러 질환에 대한 새로운 치료법의 방향을 제시할 수 있을 것으로 기대되고 있다.

## 심장 및 체순환

NO의 심혈관계에 대한 작용은 매우 다양하다. NO는 EDRF의 한 요소로서 혈관평활근을 이완시켜 혈관을 확장시키는 작용이 가장 널리 알려져 있는 바, 이는 내피세포로부터 혈관평활근 이완을 유발하는 지령의 주된 전달체이다.<sup>36)</sup>

세균감염으로 인한 패혈증시 전신의 말초혈관이 심하게 이완되어 혈압이 급격히 감소하는데, 이 때는 혈관수축제에 대해서도 반응하지 않고 순환허탈에 의하여 사망하는 경우가 있다. 이는 박테리아 세포막 성분의 하나인

lipopolysaccharide(LPS) 내독소에 의해 염성반응을 유발하는 cytokine들(interleukin 1 $\beta$ , tumor necrosis factor  $\alpha$ , interferon  $\gamma$  등)이 유리되고, 이들이 혈관벽의 iNOS(Ca<sup>++</sup>-independent NOS)를 활성화한 결과 NO의 지속적인 대량유출이 일어난다.<sup>37)</sup> 그러므로 패혈증 혈압강하의 주원인은 NO 합성의 증가인 것으로 추정되며, Nava 등<sup>38)</sup>은 흰쥐에 내독소-유발 저혈압을 일으킨 상태에서 NOS 억제제인 N<sup>G</sup>-monomethyl-L-arginine(L-NMMA)<sup>39)</sup>을 투여하여 혈압의 회복을 관찰함으로써 위의 가정이 옳음을 증명하였다. 또 Kilbourn과 Belloni<sup>40)</sup>는 면역조절물질(immunomodulator)인 tumor necrosis factor와 interleukin이 흰쥐의 혈관내피세포로부터 NO를 유리시킴을 관찰하면서 L-NMMA로 이를 억제하는데 성공하고, 항암치료를 위해 위와 같은 면역조절물질을 사용할 때 올 수 있는 저혈압 등의 부작용을 방지하기 위하여 L-NMMA또는 이와 유사한 NOS 억제제를 병용함으로써 항암치료효과를 더욱 높일 수 있을 것으로 전망하였다.

최근까지 알려진 NOS 억제제는 앞서 말한 N<sup>G</sup>-monomethyl-L-arginine (L-NMMA) 외에 N<sup>G</sup>-nitro-L-arginine (NNLA)<sup>41)</sup>, N<sup>G</sup>-nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME)<sup>42)</sup>, N<sup>G</sup>-nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME)<sup>43)</sup> 및 placenta에서 발견된 내인성 NOS 억제제 N<sup>G</sup>, N<sup>G</sup>-dimethylarginine (asymmetric dimethylarginine, ADMA)등의 비선택성 억제제들이 있으며, 이러한 제제들은 NOS에 대한 선택성이 없어 constitutive형과 inducible형을 공히 억제하므로 이들을 임상에 적용하기 위해서는 그 비선택성의 문제를 극복해야하는 과제가 있다. 만일 패혈증 치료를 위하여 고용량의 비선택성 NOS 억제제를 투여하면 혈압은 상승하겠지만 모든장기의 constitutive NOS를 억제하여 기본적으로 유리해야할 NO까지 억제하므로

vital organ의 혈액순환을 악화시켜 허혈을 유발할 수가 있다는 것이다. 특히 LPS가 말초혈관 내피세포의 cNOS mRNA 발현을 억제한다는 보고<sup>44)</sup>를 염두에 둔다면, 내독소에 의한 패혈증을 치료하기 위하여 ccNOS를 억제하는 상기의 비선택성 억제제들을 투여하는 것은 그 실효성을 의심할 수 밖에 없을 것이다. 혈관평활근 세포에 존재하는 iNOS를 선택적으로 억제하는 약물로서 aminoguanidine(AMG)<sup>26,45)</sup>이 있다. Weigert 등<sup>46)</sup>은 LPS를 투여한 흰쥐의 대동맥에서 iNOS mRNA의 발현을 확인하고, AMG를 투여하여 LPS에 의한 혈관의 저반응성을 극복하는데 성공하였다. Transforming growth factor  $\beta_1$ (TGF- $\beta_1$ )은 혈관평활근 세포에서 iNOS mRNA의 유전자 발현을 억제하여 NO 산생을 막는 억제제로서 LPS를 투여한 흰쥐에서 iNOS의 유전자 발현을 효과적으로 억제하였으나 내피세포성 eNOS mRNA의 발현은 억제하지 않았다.<sup>46)</sup>

이러한 연구 결과들을 보면 세균내독소에 의한 패혈증에는 혈관평활근의 iNOS가 중요한 원인적 요소임을 알 수 있고, 그에 대한 치료 대책 으로서는 비선택성 NOS 억제제 보다는 혈관내피세포의 ecNOS를 잘 보존하면서 iNOS만을 선택적으로 억제하는 선택성 iNOS 억제제들이 보다 긍정적인 가능성을 보여주고 있다고 생각된다.

그러면 NO가 심장과 관상혈관에서는 어떻게 작용하는가? 관상혈관에서도 체순환 혈관에서와 같이 내인성 NO가 허혈부위의 혈관저항을 감소 시킴으로써 심근의 수축성과 대사기능을 개선하는 한편,<sup>47)</sup> 심근세포에서는 심장내피세포에서 유리된 NO가 심근세포의 cGMP를 증가시키고, 이 cGMP가 심근의 수축성을 증가-감소 시킨다.<sup>48)</sup> Mohan 등<sup>49)</sup>은 고양이의 심실 유두근을 이용하여 NO를 산생하는 혈관확장제들 즉 sodium

nitroprusside(SNP), 3-morpholino-sydnonimine(SIN-1), 및 S-nitroso-N-acetyl-penicillamine(SNAP)의 효과를 관찰한 바, 이들 약물은 소량에서는 양성변력성(positive inotropic)을 나타내나 고용량에서는 음성변력성(negative inotropic)을 나타내었고, 이 두가지 반응은 다같이 cGMP 억제제인 methylene blue에 의해서 억제되었다고 하였다. 최근 Zhu 등<sup>49)</sup>의 연구보고를 보면 실험적으로 담배를 많이 피우게 한 흰쥐에서 심근의 허혈-재관류를 유도하고 대표적 NO 공여제인 L-arginine을 투여한 결과 심근경색의 범위가 축소되는 것을 관찰하였으며, Hoshida 등<sup>50)</sup>은 급성 과콜레스테롤혈증을 유발한 토끼에서 NO 공여제인 SNAP이 심근경색의 범위를 효과적으로 축소하는 것을 관찰하였다. 이러한 결과들은 관상혈관내피세포의 ccNOS가 L-arginine을 이용하여 보다 많은 NO를 산생하고 이 NO가 관상혈관을 확장시킨 것에 기인하는 것으로 생각된다. 실제로 협심증 치료제인 유기 질산제 nitroglycerin,<sup>51)</sup> peroxynitrite,<sup>52)</sup> nitrites, nitrosothiols, sydnonimines and nitroprusside<sup>53)</sup> 등의 관상혈관 확장작용도 그 분자의 구성성분으로 부터 유리된 NO가 혈관벽 평활근을 유리시킨다는 것이 널리 인정되고 있는 사실이다.<sup>51-53)</sup> 이러한 현상은 경미한 허혈상태에서의 내피성 NOS의 활성화 또는 적당한 량의 NO 공급은 관상혈류의 개선과 심근세포내 대사의 개선 등으로 심근을 보호할 수 있음을 암시한다. 단 고농도의 NO공여제에 의한 심근수축력 억제는 다음과 같이 심근세포내 iNOS의 활성화와 관련지어 생각할 수 있다.

심근경색, 이식심장의 거부반응 및 심근염 등이 발생하면 대식세포와 심근세포의 iNOS가 활성화 되는데,<sup>54)</sup> 관상동맥 결찰 후에 발생한 경색 부위에서 이들 iNOS활성이 저명하게 증가하는 것을 관찰한 Suzuki 등<sup>54)</sup>은 선택적 iNOS 억제제

인 S-methylisothiourea(SMT)나 aminoguanidine (AMG)를 투여했을 때, 경색부위보다는 건강한 부위에서 iNOS의 억제정도가 더 높은 것을 관찰하였으며, Wildhirt등<sup>55)</sup>은 토끼의 관상동맥을 결찰한 48시간 후에 iNOS가 저명하게 증가하고 이러한 증가가 약 14일간 지속된 후에 서서히 감퇴되는 것을 관찰하였고, 이때의 iNOS는 대부분이 대식세포에서 발현하는 것을 확인하였다. 또 이들은 사람의 심근경색 부위에서도 이와 같은 iNOS의 발현을 관찰하였는데, 이 때 투여된 SMT가 좌심실의 활동을 현저히 개선하는 동시에 좌심실의 관상혈류도 증가시키는 것을 확인하고, iNOS 활성의 증가와 이에 따른 NO의 과다한 유리가 침윤된 대식세포와 심근세포의 고사(apoptosis)를 유도하였다고 추정하였다. 이러한 사실들로 미루어 보아 심장의 ecNOS를 그대로 보존하면서 iNOS만을 선택적으로 억제하는 방법은 심근경색의 치료에 상당한 도움이 될 수

있을 것이라고 추정된다.

앞서 전신 혈관계에서의 LPS 유발 혈관저반응성은 선택적 iNOS 억제제로서 극복할 수 있는 가능성을 보였다. 여기서는 심장에서 LPS와 NOS의 관계를 살펴보기로 한다. LPS는 심근의 iNOS를 활성화시키고, 이에 병행하여 NOS 의존적인 심근수축의 저하를 초래하였으나, 이에 중요한 중간매체인 protein kinase C (PKC)의 매개가 필수적임이 밝혀졌으며,<sup>56)</sup> Keller 등<sup>57)</sup>은 NO가 심근 수축성의 조절에 관여함은 분명하지만 해명을 이용한 실험에서 NO 단독으로서는 심방이나 심실 어느쪽에서도 심근수축력에 직접적인 영향을 미치지 못한다고 보고하였다. Liaudet 등<sup>58)</sup>은 LPS와 NO와의 연결이 심혈관계 전체에 미치는 효과를 관찰하였다. 마취한 흰쥐에 LPS를 투여했을 때 혈압과 심장계수가 서서히 감소하였는데, 이 때 lactic acidosis와 혈장 nitrate농도의 증가를 동반하였다. 선택적 iNOS

Table 2. Selectivities of nitric oxide synthase inhibitors

Name	selectivity
N <sup>G</sup> -nitro-L-arginine(NNLA)	cNOS
N <sup>G</sup> -nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME)	none
N <sup>G</sup> -monomethyl-L-arginine(L-NMMA)	none
N <sup>W</sup> -nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME)	none
N <sup>G</sup> , N <sup>G</sup> -demethyl-L-arginine (asymmetric dimethylarginine, ADMA *)	none
N(5)-(1-iminoethyl)-L-ornithine (L-NIO)	eNOS
7-nitroimidazole (7-NI)	bNOS(nNOS)
S-methylisothiourea (SMT)	iNOS
S-ethylisothiourea (SET)	none
Aminoethylisothiourea (AETU)	iNOS
Aminoguanidine (AMG)	iNOS
Agmatine *	iNOS
L-canavanine	iNOS
Transforming growth factor $\beta_1$ (TGF- $\beta_1$ ) *	iNOS

\* ADMA: an endogenous NOS inhibitor found in human plasma and urine.

\* Agmatine: an endogenous NOS inhibitor found in pollen, sponges, herring sperm and octopus muscle.

\* TGF- $\beta_1$ : inhibits the gene expression of iNOS mRNA.

억제제인 L-canavanine은 이 모든 변화를 현저히 감퇴시켰으며, 치사량의 LPS를 투여한 흰쥐에서도 그 생존율을 유의하게 증가시켰다. 이와는 대조적으로 비선택적 NOS 억제제인 L-NAME은 LPS에 의한 혈압하강은 회복시켰으나 그 대신 심장계수는 심하게 저하시켰고, 동시에 lactic acidosis는 심하게 악화시켰으며, 내독소혈증의 생쥐에서 그 생존율을 개선하지 못하였다. 이는 L-name이 내피세포의 eNOS를 억제하여 혈관확장작용을 방해하였기 때문으로 해석할 수 있다. 결국 관상혈류의 장애시와 마찬가지로 LPS-cytokines의 공격 즉 세균내독소에 의한 패혈증시에도 심근세포에서의 iNOS 발현은 이루어지며 이는 곧 심근세포의 손상으로 이어지므로 이러한 경우에도 선택적 iNOS 억제제가 유용하리라고 생각된다.

## 신혈류와 신장질환

신장에서는 여러가지 세포가 다양한 NOS를 발현하고 있다. 먼저 신조직내의 신경섬유<sup>59)</sup>나 밀집반세포<sup>60)</sup> 및 사구체맥관막세포<sup>61)</sup> 등이 bNOS (nNOS, NOS I)를 가지며, 피질 및 수질의 혈관과 세뇨관상피세포는 eNOS(NOS III)를 발현한다.<sup>61)</sup> 또 사구체맥관막세포<sup>62)</sup>와 일부 세뇨관상피세포들<sup>63)</sup>은 iNOS(NOS II)를 가지고 있어서 tumor necrosis factor나 interleukin들에 의해 자극을 받는다.

혈관내피세포에서는 cNOS에 의해 지속적으로 소량의 NO를 유리하여 수입사구체소동맥과 사구체맥관막세포의 긴장도를 조절함으로써 신혈류량을 유지하며, 밀집반세포와 수입사구체소동맥에서 유리된 NO는 renin유리를 일으켜 총사구체여과량을 조절하므로, NO는 신장 자체에서

사구체 모세혈관압, 신혈류량 및 사구체여과율 등의 유지에 중요한 역할을 하고 있다고 하였다.<sup>64)</sup> 또 최근에 Myers 등<sup>65)</sup>은 대동맥을 절찰한 흰쥐에서 L-NAME가 신동맥혈류량을 저하시킴을 관찰하고 NO가 신혈류량 자가조절 기전의 일부를 담당하고 있음을 확인하였다.

TNF- $\alpha$  나 IL-1등의 cytokine들은 NO의 합성을 유발한다.<sup>66)</sup> Saura 등<sup>67)</sup>은 사구체맥관막세포에 iNOS가 존재하는 것은 cytokine들이나 LPS에 의한 자극시 NO합성을 촉진하는 요인이 된다고 하였으며, Jansen 등<sup>68)</sup>은 immune complex로 사구체염을 유발한 흰쥐의 사구체에서 대식세포의 침윤이 최고에 달했을 때 다량의 iNOS가 존재함을 확인하고 immune complex 유발 사구체염에서 NO가 중요한 역할을 할 것이라고 추정하였다.

신장 실질의 병변이 있는 환자에게서는 고혈압증을 자주 볼 수 있다. 이는 대개 신혈류량과 사구체 여과율의 감소로 인하여 renin-angiotensin계의 활성화가 그 원인이라고 알려져 있다. 이러한 일련의 과정에서 NO가 renin유리를 유발하는 조절자로서의 역할을 담당할 것이라는 추측이 가능하다고 본다. 이는 immune complex에 의한 iNOS의 활성화와 실질세포의 손상 및 신혈류량의 감소 등으로 일맥상통하는 바가 있어, 앞으로 신장질환과 고혈압 및 선택적 iNOS 억제제와의 상호관계를 임상적 측면에서 추구하고볼 만한 가치가 있으리라 본다.

## 요 약

대기오염물질이면서 동시에 생체내 화학반응의 산물이기도 한 nitric oxide(NO)는 그 생체내 분포가 광범위하고 생리적 역할이 다양하여, 최근의 생명과학 분야에서 가장 크게 주목 받는



몇가지 연구대상 중 하나이다.

세포에서의 NO 생성은 nitric oxide synthase (NOS)에 의해 촉매되는데, 이들은 brain form (bNOS, neuronal; nNOS, NOS I), inducible form (iNOS), 및 endothelial form(eNOS)로 구분되는데, 이중 bNOS(nNOS)와 eNOS는 inducible form에 대비되는 constitutive form(cNOS)에 해당하므로 각각 ncNOS 와 ecNOS로도 불리운다.

NOS는 아미노산인 L-arginine을 산소와 결합시켜 L-citrulline으로 변환시키면서 NO를 유리하고, 이 NO는 세포내의 guanylate cyclase를 활성화하여 cyclic GMP를 생산하거나, superoxide(O<sub>2</sub><sup>-</sup>) 및 수소이온과 차례로 결합하여 반응성이 매우 높은 수산화기(-OH)를 발생시켜 세포독작용을 유발하기도 한다.

정상상태에서 뇌혈관내피세포의 ecNOS로부터 유리된 NO는 혈관을 확장시켜 신경세포에 대한 산소공급을 원활히 유지해 주지만, 순환장애를 일으켰을 때는 뇌조직내의 iNOS로부터 대량의 NO가 유출되어 신경세포의 손상을 가져온다.

호흡기에서는 NO가 기도평활근을 이완시키고 폐혈류를 개선하므로, 미숙아나 성인의 호흡장애시에 소량의 NO를 흡입시키면 oxygenation을 호전시킬 수 있다. 그러나 대기오염이나 흡연 등으로 대량의 NO를 흡입할 경우 치명적인 폐부종이나 methemoglobin혈증을 일으킬 수 있다.

순환계에서는 cNOS가 혈관을 확장시켜 조직의 혈류를 유지하는데 일익을 담당한다. 세균내독소(lipopolysaccharide; LPS)나 각종 면역조절물질들이 혈관내피세포와 혈관평활근세포로부터 과다한 NO를 유리시키면 혈압이 급격히 떨어져 순환허탈상태에 빠지게 된다. 심장에서는 관상혈관 내피세포의 cNOS가 심근의 혈류를 유지해 주지만 허혈이나 세균내독소 또는 면역조절물질

등에 의하여 심근세포나 침윤된 대식세포의 iNOS로부터 과량의 NO가 유리되면 심근세포의 손상이 초래된다.

심장에서는 내피세포의 cNOS에 의하여 사구체여과가 조절되고 있는데, 세균내독소나 면역조절물질 등에 의하여 사구체관막세포(mesangial cell) 등의 iNOS로부터 과량의 NO가 유리되면 신조직과 사구체의 손상을 초래한다.

위와 같이 대부분의 장기에서 ecNOS는 조직의 혈류를 유지하는 역할을 하며, iNOS는 애초 세균 등 침입자에 대한 세포독작용이 그 존재 목적이라고 풀이할 수 있겠으나 일종의 부작용으로 자체조직의 손상을 초래하게 되는 것으로 본다. 따라서 NO와 관련된 각종 병변의 치료를 위해서는 NOS의 비선택적 억제제인 arginine 유도체 보다는 iNOS에 대한 선택적 억제제인 S-methylisothiourea(SMT), aminoethylisothiourea(AETU), aminoguanidine (AMG), agmatine, L-canavanine, transforming growth factor b1(TGF-b1) 등의 사용을 검토해 보는 것이 타당할 것으로 사료된다.

## 참 고 문 헌

1. Goldsmith JR, Griffith HL, Detels R, Beeser S, Neumann L: Emergency room admissions, meteorologic variables, and air pollutants: a path analysis. Am J Epidemiol (UNITED STATES) 118(5):759-778, 1983.
2. Spicer CW: The distribution of oxidized nitrogen in urban air. Sci Total Environ (NETHERLANDS) 24(2):183-192, 1982.
3. Hugod C: Myocardial morphology in rabbits exposed to various gas-phase constituents of

- tobacco smoke - an ultrastructural study. *Atherosclerosis (NETHERLANDS)* 40(2): 181-190, 1981.
4. Nathan C: Nitric oxide as a secondary product of mammalian cells. *FASEB J* 6(12): 3051-3064, 1992.
  5. Iyengar R, Stuehr DJ, Marletta MA: Macrophage synthesis of nitrite, nitrate, and N-nitrosamines: precursors and role of the respiratory burst. *Proc Natl Acad Sci USA* 84(18): 6369-6373, 1987.
  6. Marletta MA, Yoon PS, Iyengar R, Leaf CD, Wishnok JS: Macrophage oxidation of L-arginine to nitrite and nitrate: Nitric oxide is an intermediate. *Biochemistry* 27(24): 8706-8711, 1988.
  7. Rapoport RM, Draznin MB, Murad F: Endothelium-dependent relaxation in rat aorta may be mediated through cyclic GMP-dependent protein phosphorylation. *Nature (ENGLAND)* 306(5939): 174-176, 1983.
  8. Furchgott RF, Zawadzki JV: The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature* 288(5789): 373-376, 1980.
  9. Kuo PC, Schroeder RA: The emerging multifaceted roles of nitric oxide. *Ann Surg* 221(3): 220-235, 1995.
  10. Lowenstein CJ, Dinerman JL, Snyder SH: Nitric oxide: a physiologic messenger. *Ann Intern Med* 120(3): 227-237, 1994.
  11. Park CS: Isoforms of human nitric oxide synthase: expression, distribution and inhibition. *Kor J Pharmacol* 32(suppl): 35-36, 1996.
  12. Lamas S, Marsden PA, Li GK, Tempst P, Michel T: Endothelial nitric oxide synthase: molecular cloning and characterization of a distinct constitutive enzyme isoform. *Proc Natl Acad Sci USA* 89(14): 6348-6352, 1992.
  13. Sessa WC, Barber CM, Lynch KR: Mutation of N-myristoylation site converts endothelial cell nitric oxide synthase from a membrane to a cytosolic protein. *Circ Res* 72(4): 921-924, 1993.
  14. Bredt DS, Hwang PM, Glatt CE, Lowenstein C, Reed RR, Snyder SH: Cloned and expressed nitric oxide synthase structurally resembles cytochrome P-450 reductase. *Nature* 351(6329): 714-718, 1991.
  15. Nakane M, Schmidt HHW, Pollock JS, Frstermann U, Murad F: Cloned human brain nitric oxide synthase is highly expressed in skeletal muscle. *FEBS Lett* 316(2): 175-180, 1993.
  16. Lyons CR, Orloff GJ, Cunningham JM: Molecular cloning and functional expression of an inducible nitric oxide synthase from a murine macrophage cell line. *J Biol Chem* 267(9): 6360-6374, 1992.
  17. Garthwaite J, Charles SL, Chess-Williams R: Endothelium-derived relaxing factor release on activation of NMDA receptors suggests role as intercellular messenger in the brain. *Nature* 336(6197): 385-388, 1988.
  18. Dawson TM, Bredt DS, Fotuhi M, Hwang PM, Snyder SH: Nitric oxide synthase and neuronal NADPH diaphorase are identical in brain and peripheral tissues. *Proc Natl Acad Sci USA* 88(17): 7797-7801, 1991.
  19. Wu W, Liuzzi FJ, Schinco FP, Depto AS, Li Y, Mong JA, Dawson TM, Snyder SH: Neu-

- ronal nitric oxide synthase is induced in spinal neurons by traumatic injury. *Neuroscience*. 61(4): 719-26, 1994.
20. Dawson TM, Dawson VL, Snyder SH: A novel neuronal messenger molecule in brain: the free radical, nitric oxide. *Ann N Y Acad Sci* 32(3): 297-311, 1992.
  21. Sato S, Tominaga T, Ohnishi T, Ohnishi ST: Role of nitric oxide in brain ischemia. *Ann N Y Acad Sci* 738: 369-373, 1994.
  22. Chan PH: Role of oxidants in ischemic brain damage. *Stroke* 27(6): 1124-1129, 1996.
  23. Iadecola C: Regulation of the cerebral microcirculation during neural activity: Is nitric oxide the missing link? *Trends Neurosci* 16(6): 206-214, 1993.
  24. Dawson VL, Dawson TM, Bartely DA, Uhl GR, Snyder SH: Mechanism of nitric oxide-mediated neurotoxicity in primary brain cultures. *J Neurosci* 13(6): 2651-2661, 1993.
  25. Zhang F, Casey RM, Ross ME, Iadecola C: Aminoguanidine ameliorates and L-arginine worsens brain damage from intraluminal middle cerebral artery occlusion. *Stroke*. 27(2): 317-323, 1996.
  26. Iadecola C, Zhang F, Casey R, Clark HB, Ross ME: Inducible nitric oxide synthase gene expression in vascular cells after transient focal cerebral ischemia. *Stroke* 27(8): 1373-1380, 1996.
  27. Trolin G, Anden T, Hedenstierna G: Nitric oxide (NO) in expired air at rest and during exercise. *Acta Physiol Scand* 151(2): 159-163, 1994.
  28. Leone AM, Gustafsson LE, Francis PL, Persson MG, Wiklund NP, Moncada S: Nitric oxide is present in exhaled breath in humans: direct GC-MS confirmation. *Biochem Biophys Res Commun* 201(2): 883-887, 1994.
  29. Peliowski A, Finer NN, Etches PC, Tierney AJ, Ryan CA: Inhaled nitric oxide for premature infants after prolonged rupture of the membranes. *J Pediatr* 126(3): 450-453, 1995.
  30. Rossaint R, Gerlach H, Schmidt-Ruhnke H, Pappert D, Lewandowski K, Steudel W, Falke K: Efficacy of inhaled nitric oxide in patients with severe ARDS. *Chest* 107(4): 1107-1115, 1995.
  31. Stuart SK, Bynoe TC, Lindeman KS, Hirshman CA: Differential effects of nitrovasodilators and nitric oxide on porcine tracheal and bronchial muscle in vitro. *J Appl Physiol* 77(3): 1142-1147, 1994.
  32. Fullerton DA, McIntyre RC Jr: Inhaled nitric oxide: therapeutic applications in cardiothoracic surgery. *Ann Thorac Surg*. 61(6): 1856-1864, 1996.
  33. Lunn RJ: Inhaled nitric oxide therapy. *Mayo Clin Proc* 70(3): 247-255, 1995.
  34. Clutton-Brock J: Two cases of poisoning by contamination of nitrous oxide with higher oxides of nitrogen during anaesthesia. *Br J Anaesth (ENGLAND)* 39(5): 388-392, 1967.
  35. Stavert DM, Lehnert BE: Nitric oxide and nitrogen dioxide as inducers of acute pulmonary injury when inhaled at relatively high concentrations for brief periods. *Inhalation Toxicol* 2: 53-67, 1990.
  36. Schulz R, Triggler CR: Role of NO in vascular

- smooth muscle and cardiac muscle function. *Trends Pharmacol Sci.* 15(7): 255-259, 1994.
37. Moncada S, Palmer RMJ, Higgs EA: Nitric oxide, physiology, pathophysiology and pharmacology. *Pharmacol Rev* 43(2): 109-142, 1991.
  38. Nava E, Palmer RM, Moncada S: Inhibition of nitric oxide synthesis in septic shock: How much is beneficial? *Lancet* 338(8782-8783): 1555-1557, 1991.
  39. Depre C, Vanoverschelde JL, Goudemant JF, Mottet I, Hue L: Protection against ischemic injury by nonvasoactive concentrations of nitric oxide synthase inhibitors in the perfused rabbit heart. *Circulation* 92(7): 1911-1918, 1995.
  40. Kilbourn RG, Belloni P: Endothelial cell production of nitrogen oxides in response to interferon gamma in combination with tumor necrosis factor, interleukin-1, or endotoxin. *J Natl Cancer Inst* 82(9): 772-776, 1990.
  41. Strosznajder J, Chalimoniuk M: Biphasic enhancement of nitric oxide synthase activity and cGMP level following brain ischemia in gerbils. *Acta-Neurobiol-Exp-Warsz.* 56(1): 71-81, 1996.
  42. Salehi A, Carlberg M, Henningson R, Lundquist I: Islet constitutive nitric oxide synthase: biochemical determination and regulatory function. *Am J Physiol.* 270(6 Pt 1): C1634-1641, 1996.
  43. Minami T, Onaka M, Okuda Ashitaka E, Mori H, Ito S, Hayaishi O: L-NAME, an inhibitor of nitric oxide synthase, blocks the established allodynia induced by intrathecal administration of prostaglandin E2. *Neurosci Lett.* 201(3): 239-242, 1995.
  44. Lu JL, Schmiede LM 3rd, Kuo L, Liao JC: Downregulation of endothelial constitutive nitric oxide synthase expression by lipopolysaccharide. *Biochem Biophys Res Commun* 225(1): 1-5, 1996.
  45. Weigert AL, Higa EM, Niederberger M, McMurtry IF, Reynolds M, Schrier RW: Expression and preferential inhibition of inducible nitric oxide synthase in aortas of endotoxemic rats. *J Am Soc Nephrol* 5(12): 2067-2072, 1995.
  46. Perrella MA, Hsieh CM, Lee WS, Shieh S, Tsai JC, Patterson C, Lowenstein CJ, Long NC, Haber E, Shore S, Lee ME: Arrest of endotoxin-induced hypotension by transforming growth factor  $\beta$ 1. *Proc Natl Acad Sci USA.* 93(5): 2054-2059, 1996.
  47. Kitakaze M, Node K, Minamino T, Kosaka H, Shinozaki Y, Mori H, Inoue M, Hori M, Kamada T: Role of nitric oxide in regulation of coronary blood flow during myocardial ischemia in dogs. *J Am Coll Cardiol* 27(7): 1804-1812, 1996.
  48. Mohan P, Brutsaert DL, Paulus WJ, Sys SU: Myocardial contractile response to nitric oxide and cGMP. *Circulation* 93(6): 1223-1229, 1996.
  49. Zhu B, Sun Y, Sievers RE, Shuman JL, Glantz SA, Chatterjee K, Parmley WW, Wolfe CL: L-arginine decreases infarct size in rats exposed to environmental tobacco smoke. *Am Heart J.* 132(1 Pt 1): 91-100, 1996.
  50. Hoshida S, Yamashita N, Igarashi J, Nishida M, Hori M, Kuzuya T, Tada M: A nitric oxide donor reverses myocardial injury in rabbits with acute hypercholesterolemia. *J Pharmacol Exp*

- Ther. 278(2): 741-746, 1996.
51. Bauer JA, Fung HL: Specific binding of nitroglycerin to coronary artery microsomes. Evidence of a vascular nitrate binding site. *Biochem Pharmacol* 52(4): 619-625, 1996.
  52. Moro MA, Darley-USmar VM, Lizasoain I, Su Y, Knowles RG, Radomski MW, Moncada S: The formation of nitric oxide donors from peroxynitrite. *Br J Pharmacol.* 116(3): 1999-2004, 1995.
  53. Dendorfer A: Pharmacology of nitrates and other NO donors *Herz* 21(Suppl 1): 38-49, 1996.
  54. Suzuki H, Wolf WP, Akiyama K, Horstman D, Grant P, Cannavino C, Bing RJ: Effect of inhibitors of inducible form of nitric oxide synthase in infarcted heart muscle. *Proc Assoc Am Physicians* 108(2): 173-178, 1996.
  55. Wildhirt SM, Dudek RR, Suzuki H, Bing RJ: Involvement of inducible nitric oxide synthase in the inflammatory process of myocardial infarction. *Int J Cardiol* 50(3): 253-261, 1995.
  56. McKenna TM, Li S, Tao S: PKC mediates LPS- and phorbol-induced cardiac cell nitric oxide synthase activity and hypocontractility. *Am J Physiol.* 269(6 Pt 2): H1891-1898, 1995.
  57. Keller RS, Jones JJ, Kim KF, Myers PR, Adams HR, Parker JL, Rubin LJ: Endotoxin-induced myocardial dysfunction: Is there a role for nitric oxide? *Shock* 4(5): 338-344, 1995.
  58. Liaudet L, Feihl F, Rosselet A, Markert M, Humi JM, Perret C: Beneficial effects of L-canavanine, a selective inhibitor of inducible nitric oxide synthase, during rodent endotoxaemia. *Clin Sci Colch* 90(5): 369-377, 1996.
  59. Liu L, Barajas L: Nitric oxide synthase immunoreactive neurons in the rat kidney. *Neurosci Lett* 161(2): 145-148, 1993.
  60. Singh I, Grams M, Wang WH, Yang T, Killen P, Smart A, Schnermann J, Briggs JP: Coordinate regulation of renal expression of nitric oxide synthase, renin, and angiotensinogen mRNA by dietary salt. *Am J Physiol* 270(6 Pt 2): F1027-1037, 1996.
  61. Bachmann S, Bosse HM, Mundel P: Topography of nitric oxide synthesis by localizing constitutive NO synthases in mammalian kidney. *Am J Physiol.* 268(5 Pt 2): F885-898, 1995.
  62. Kunz D, Walker G, Eberhardt W, Nitsch D, Pfeilschifter J: Interleukin 1 $\beta$ -induced expression of nitric oxide synthase in rat renal mesangial cells is suppressed by cyclosporin A. *Biochem Biophys Res Commun* 216(2): 438-446: 1995.
  63. Peresleni T, Noiri E, Bahou WF, Goligorsky MS: Antisense oligodeoxynucleotides to inducible NO synthase rescue epithelial cells from oxidative stress injury. *Am J Physiol* 270(6 Pt 2): F971-977, 1996.
  64. Raij L, Baylis C: Glomerular actions of nitric oxide [editorial] *Kidney Int* 48(1): 20-32, 1995.
  65. Myers SI, Turnage RH, Hernandez R, Castenada A, Valentine RJ: Autoregulation of renal and splanchnic blood flow following infra-renal aortic clamping is mediated by nitric oxide and vasodilator prostanoids. *J Cardiovasc Surg Torino* 37(2): 97-103, 1996.
  66. Marsden PA, Ballermann BJ: Tumor necrosis factor alpha activates soluble guanylate cyclase in bovine glomerular mesangial cells via an L-

- arginine-dependent mechanism. *J Exp Med* 172(6): 1843-1852, 1990.
67. Pfeilschifter J, Kunz D, Muhl H: Nitric oxide: an inflammatory mediator of glomerular mesangial cells. *Nephron* 64(4): 518-525, 1993.
68. Saura M, Lopez S, Rodriguez-Puyol M, Rodriguez-Puyol D, Lamas S: Regulation of inducible nitric oxide synthase expression in rat mesangial cells and isolated glomeruli. *Kidney Int* 47(2): 500-509, 1995.
69. Jansen A, Cook T, Taylor GM, Lagen P, Riveros-Moreno V, Moncada S, Cattell V: Induction of nitric oxide synthase in rat immune complex glomerulonephritis. *Kidney Int* 45(4): 1215-1219, 1994.