

## 관류 기니픽 심장에서 melatonin에 의한 $Mg^{2+}$ 유리 조절

장효진 · 육지혜 · 김진상

전북대학교 생체안전성연구소  
(2001년 7월 11일 게재승인)

### The regulation of $Mg^{2+}$ efflux by melatonin in perfused guinea pig hearts

Hyo-jin Chang, Ji-hea Youk, Jin-shang Kim

Bio-Safety Research Institute, Chonbuk National University  
(Accepted by July 11, 2001)

**Abstract :** Several recent studies demonstrate that cAMP accumulation evokes marked changes in magnesium ( $Mg^{2+}$ ) homeostasis. The goal of this study was to investigate the effect of melatonin, the principal hormone of the vertebral pineal gland, on  $Mg^{2+}$  regulation in perfused guinea pig hearts. We hypothesized that melatonin would regulate  $Mg^{2+}$  efflux induced by adrenergic drugs and cAMP analogues because melatonin inhibits adenylate cyclase (AC) and phospholipase C (PLC) in the hearts. The  $Mg^{2+}$  content in the perfusate was significantly higher in the presence than in the absence of melatonin. The addition of forskolin, isoproterenol or dimaprit to perfused hearts induced a marked  $Mg^{2+}$  efflux. These effluxes were not inhibited by melatonin. The  $Mg^{2+}$  efflux could also be induced by phenylephrine, a  $\alpha_1$ -adrenoceptor agonist. This phenylephrine-induced  $Mg^{2+}$  efflux was inhibited by melatonin. In addition, the phenylephrine-induced  $Mg^{2+}$  efflux was potentiated by PMA, a protein kinase C (PKC) activator. This  $Mg^{2+}$  efflux was inhibited by melatonin. In conclusion, these data suggest that melatonin regulates  $Mg^{2+}$  homeostasis and the inhibitory effect of melatonin on  $\alpha_1$ -adrenoceptor-stimulated  $Mg^{2+}$  efflux may occur through an inhibition of PLC pathway in perfused guinea pig hearts.

**Key words :** magnesium, melatonin,  $\alpha_1$ -adrenoceptor, heart

## 서 론

멜라토닌은 원생동물에서 인간에 이르기까지 다양한 생물의 송과선에서 분비되는 주요 호르몬으로 수면 효과가 있다는 보고<sup>1</sup> 이후 짧은 연구 기간에 많은 생리적 역할 및 효능이 밝혀지기 시작했다. 멜라토닌은 생체의 정서, 수면, 성기능, 생식주기, 면역기능 및 생체리듬을 조절하는 물질이다<sup>2,3</sup>. 즉, 멜라토닌은 생체 내 순환 호르몬으로 동물들의 주야 주기 조절자<sup>4</sup>이며, 연령 증가에 따라 역 비례적으로 감소<sup>5</sup>하는 노화 과정의 조절자이다. 그 외 멜라토닌은 세포 내 second messenger(2nd messenger)를 경유해 세포 기능을 조절<sup>6</sup>하는 것으로 알

려져 있는데, 다양한 세포 및 조직에서 멜라토닌 수용체는  $G_i$ -단백과 결합되어 AC 활성을 억제하여 항아드레날린성 효과가 있다고 하였다<sup>7</sup>. 또한 세포막 인지질 유래의 PLC를 경유한 phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate ( $PIP_2$ )로부터의 diacylglycerol(DAG)와 inositol phosphate ( $IP_3$ )의 형성을 억제하며, 세포막 또는 세포 내 소기관 막  $Ca^{2+}$ 의 유동성을 조절<sup>9</sup>하여 생체 기능을 조절할 수 있다고 하였다. 또한, 멜라토닌은 guanylate cyclase 자극으로 세포 내 cGMP 농도 증가에 관여<sup>10</sup>하여 신호전달계를 조절할 가능성이 크다.

$Mg^{2+}$ 은 생체 내에서 가장 많이 존재하는 양이온 중 하나로 여러 효소를 활성화시키는 보조인자<sup>11</sup>로서 작용

하고, 세포 내  $Mg^{2+}$ 은 다른 이온들처럼 생리적 기능의 조절인자로 매우 중요시되고 있기 때문에 세포 내  $Mg^{2+}$  변동은 심장과 같은 다양한 조직 및 세포 기능에 많은 영향을 미친다는 보고<sup>12</sup> 등  $Mg^{2+}$ 의 생리학적 역할 연구에 많은 관심이 집중되었다. 또한 최근에  $Mg^{2+}$  조절에 관한 연구로, 조직 및 세포에서  $\beta$ -adrenergic<sup>13-15</sup> 또는 histaminergic<sup>16</sup> 수용체 자극 시 cAMP 증가<sup>13,16</sup>에 의한  $Na^+$ - $Mg^{2+}$  교환기 활성화의 결과<sup>17,18</sup>로 세포 내  $Mg^{2+}$ 이 세포 외로 유리될 수 있다고 알려져 있다. 역시 직접적으로 세포막을 통과할 수 있는 cAMP에 의해서도  $Mg^{2+}$ 이 세포 외로 유리되고 mitochondria로부터  $Mg^{2+}$  유리가 촉진된다고 한다<sup>13-17,19</sup>. 이와 같이 cAMP를 조절할 수 있는 약물이나 신호전달계는  $Mg^{2+}$  유리 조절에 관여하는 것으로 알려져 있다. 멜라토닌이  $Mg^{2+}$  항상성을 조절한다는 보고는 아직 없으나 세포 내 cAMP에 의해 세포 내  $Mg^{2+}$  농도가 조절되고, 멜라토닌이 세포 내 cAMP 농도<sup>10</sup> 또는 PLC 활성을 감소시키거나 억제시킨다<sup>8</sup>는 보고를 미뤄 볼 때 멜라토닌이 세포 내  $Mg^{2+}$  조절에 관여할 수 있을 것으로 추측하였다.

따라서, 본 실험에서는 기니피그 관류 심장에서 멜라토닌에 의한  $Mg^{2+}$  유리 효과를 관찰하고, cAMP를 조절하는 몇몇 약물과  $\alpha_1$ -adrenoceptor 효현제에 의한  $Mg^{2+}$  유리에 미치는 멜라토닌의 효과를 관찰하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 심장의 적출 및 관류액의 채취

300-350 g의 수컷 기니피그를 두부 타격 후 심장을 적출하여 4°C 산소 포화 영양액(120 NaCl, 3 KCl, 1.2 CaCl<sub>2</sub>, 1.2 MgCl<sub>2</sub>, 1.2 KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 10 glucose, 12 NaHCO<sub>3</sub> 및 10 mM HEPES, 95% O<sub>2</sub> : 5% CO<sub>2</sub> 및 pH 7.3)으로 혈액 등을 제거한 다음 영양액이 관류되고 있는 관류 system (Langendorff open system)의 연결관에 심장 대동맥을 삽입하여 절찰하였다. 고정 후 37°C 상기 영양액을 10 ml/min 속도로 20분간 관류시킨 다음 관류액을  $Mg^{2+}$  free 영양액으로 대체하여 공급하였다.  $Mg^{2+}$  free 영양액을 관류시킨 20분 후부터(Fig에서 1분으로 표시) 관류된 영양액을 1분 간격으로 채취하였다. 약물은 관류액 채취 10분 후부터 관류 용액에 적정 농도로 첨가하여 약 10분간 관류시켰으며 약물의 관류시간은 조건에 따라 변동시켰다.

### 관류액내 $Mg^{2+}$ 농도 측정

상기의 방법에 의해 얻은 심장 관류액내  $Mg^{2+}$  농도는 atomic absorbance spectrophotometer(AA, Analab 9200A, Korea)를 이용하여 파장 285.2 nm에서 측정하였다.

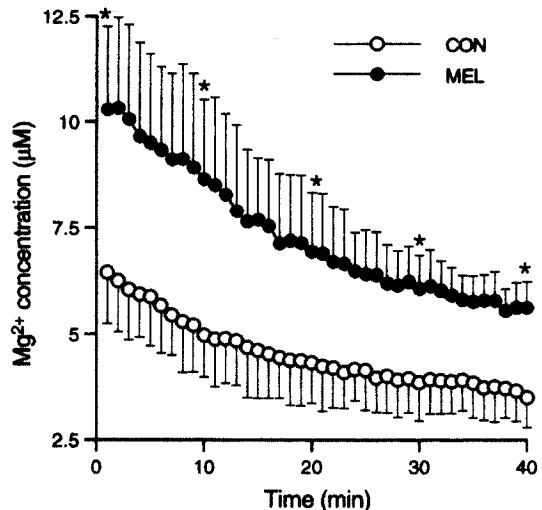
### 사용약물 및 통계처리

멜라토닌은 ICN Biochemicals, Inc.(Costa Mesa, CA-USA)로부터, dimaprit, forskolin, isoproterenol 및 phenylephrine은 Sigma Chemical Co.(St. Louis, MO-USA)로부터 구입하여 사용하였다. 실험성적은 means  $\pm$  SD로 나타냈고 각 군간의 유의성은 Student's *t*-test에 의해 검정하였다.

## 결 과

### 멜라토닌이 관류 심장에서 $Mg^{2+}$ 유리에 미치는 영향

Fig 1은 기니피그 관류 심장의 관류액 채취 10분전부터  $Mg^{2+}$  free 영양액과 멜라토닌이 포함된  $Mg^{2+}$  free 영양액을 관류시켜 비교한 것이다.  $Mg^{2+}$  free 영양액을 관류하였을 경우  $Mg^{2+}$  유리가 시간에 따라 일정한 감소를 나타내었고, 관류 후 30-40분에 관류액내  $Mg^{2+}$  농도는 최저치인  $4 \pm 1 \mu M$ 을 나타내었다. 상기와 같은 조건에서 관류액을 취하기 10분전부터 멜라토닌( $10^{-7}$ ~ $10^{-4}$  M)을 관류액에 혼합하여 관류시킨 결과 농도 의존적으로  $Mg^{2+}$  유리를 증가시켰고(자료미제시), Fig 1은  $10^{-5}$  M 멜라토닌에 의한 대표적인 결과로  $Mg^{2+}$  free 영양액만을 관류시킨 경우보다  $Mg^{2+}$  유리가 증가되었다.



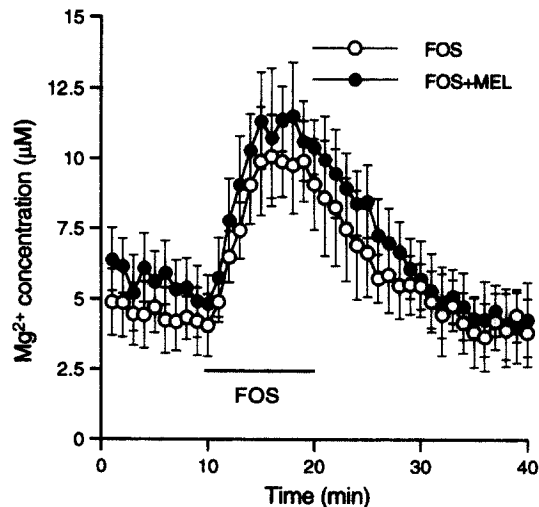
**Fig 1.** Extrusion of  $Mg^{2+}$  from guinea pig heart perfused with  $Mg^{2+}$ -free medium in the absence (○) or in the presence (●) of  $10^{-5}$  M melatonin (MEL). MEL was introduced in perfusion medium 10 min before effluent perfusate collection. Data points were determined every 1 min. Data are means  $\pm$  SD of 6 different experiments. Student's *t*-test for multiple comparisons was performed at 1, 10, 20, 30 and 40 min. \* $P \leq 0.05$  vs. control (○).

**멜라토닌이 AC 활성제에 의한 Mg<sup>2+</sup> 유리에 미치는 영향**

cAMP 농도에 의해서 세포 내 Mg<sup>2+</sup>이 조절된다고 하여, 직접적으로 AC를 활성화하여 세포 내 cAMP를 증가시킬 수 있는 약물인 forskolin을 10분간 처치한 결과 Fig 2에서와 같이 Mg<sup>2+</sup>이 현저하게 유리되었다. 이러한 forskolin에 의한 Mg<sup>2+</sup> 유리 효과는 멜라토닌(10<sup>-5</sup> M)에 의하여 억제되지 않았다. 멜라토닌의 농도를 증가(10<sup>-4</sup> M) 시켰을 때에도 forskolin에 의한 Mg<sup>2+</sup> 유리 효과가 억제되지 않았다(자료 미제시).

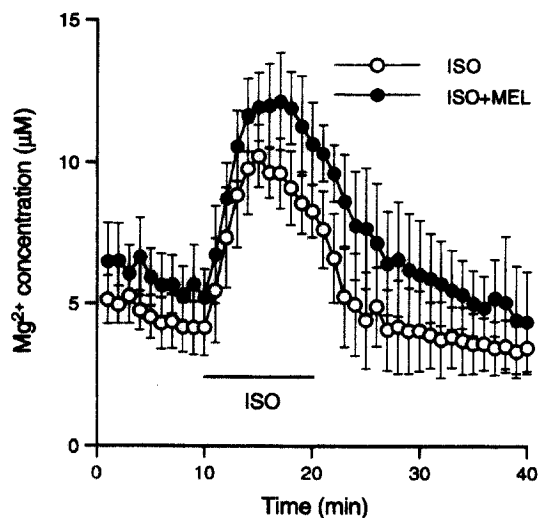
**멜라토닌이 β-adrenergic 및 histaminergic 수용체 효현제에 의한 Mg<sup>2+</sup> 유리에 미치는 영향**

상기와 유사한 조건에서 isoproterenol 및 dimaprit를 관류 심장에 처치한 결과 Mg<sup>2+</sup> 유리가 현저히 증가하였다(Fig 3, 4). Isoproterenol 및 dimaprit에 의한 Mg<sup>2+</sup> 유리에 미치는 멜라토닌의 영향을 관찰하기 위하여 멜라토닌 전 처치 후 isoproterenol 및 dimaprit를 관류시킨 결과 멜라토닌은 isoproterenol 및 dimaprit에 의한 Mg<sup>2+</sup> 유리를 억제하지 못하였다(Fig 3, 4). 역시 epinephrine도

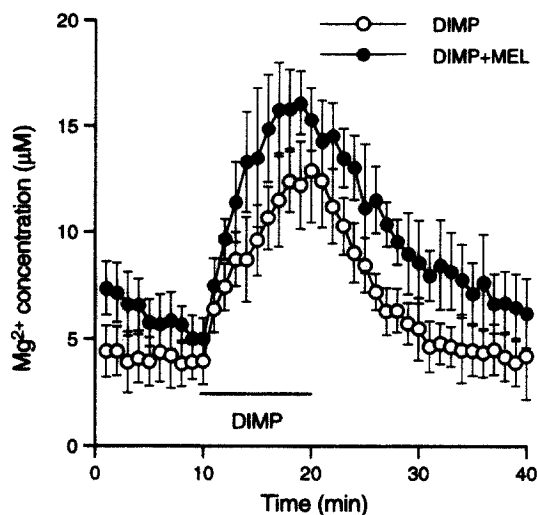


**Fig 2.** Extrusion of Mg<sup>2+</sup> from guinea pig heart perfused with 5×10<sup>-6</sup> M forskolin (FOS) in the absence (○) or in the presence (●) of 10<sup>-5</sup> M MEL. Hearts were perfused with FOS dissolved in a medium. The indicated bar show the period that the hearts were perfused with FOS. MEL was introduced in perfusion medium 10 min before effluent perfusate collection and maintained throughout experimental procedure. Data points were determined every 1 min. Data are means ± SD of 5 different experiments. There were no significant differences between the FOS and FOS + MEL groups.

Mg<sup>2+</sup> 유리를 일으켰으며 이러한 Mg<sup>2+</sup> 유리 효과는 멜라토닌에 의하여 억제되거나 차단되지 않았다(자료 미

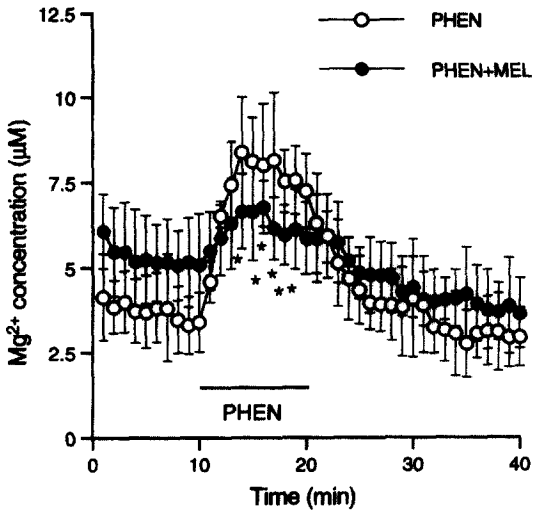


**Fig 3.** Extrusion of Mg<sup>2+</sup> from guinea pig heart perfused with 10<sup>-5</sup> M isoproterenol (ISO) in the absence (○) or in the presence (●) of 10<sup>-5</sup> M MEL. Other experimental conditions were similar to those described in Fig 2. Data are means ± SD of 5 different experiments. There were no significant differences between the ISO and ISO + MEL groups.

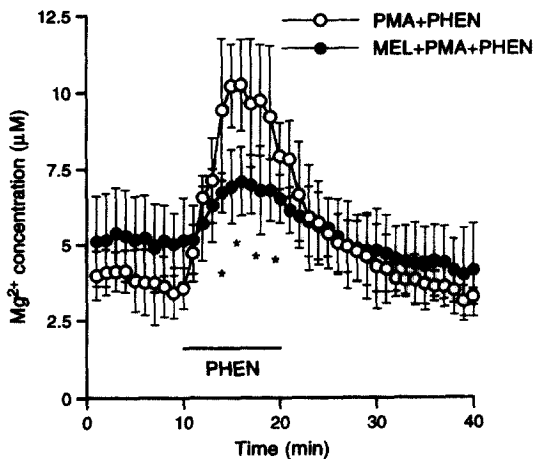


**Fig 4.** Extrusion of Mg<sup>2+</sup> from guinea pig heart perfused with 5×10<sup>-6</sup> M dimaprit (DIMP) in the absence (○) or in the presence (●) of 10<sup>-5</sup> M MEL. Other conditions were similar to those described in Fig 2. Data are means ± SD of 6 different experiments. There were no significant differences between the DIMP and DIMP + MEL groups.

제시).



**Fig 5.** Extrusion of  $Mg^{2+}$  from guinea pig heart perfused with  $10^{-6}$  M phenylephrine (PHEN) in the absence (○) or in the presence (●) of  $10^{-5}$  M MEL. Other experimental conditions were similar to those described in Fig 2. Data are means  $\pm$  SD of 5 different experiments. Student's *t*-test for multiple comparisons was performed at 14, 15, 16, 17, 18 and 19 min. \* $P \leq 0.05$  vs. PHEN (○).



**Fig 6.** Extrusion of  $Mg^{2+}$  from guinea pig heart perfused with  $10^{-6}$  M PHEN in the presence of  $3 \times 10^{-6}$  M PMA (○) or PMA + MEL (●). Other experimental conditions were similar to those described in Fig 2. Data are means  $\pm$  SD of 5 different experiments. Student's *t*-test for multiple comparisons was performed at 14, 16, 18 and 20 min. \* $P \leq 0.05$  vs. PMA (○).

### 멜라토닌이 $\alpha_1$ -adrenoceptor 효현제에 의한 $Mg^{2+}$ 유리에 미치는 효과

상기와 동일한 방법으로  $\alpha_1$ -adrenoceptor 수용체 효현제인 phenylephrine을 관류 심장에 투여한 결과  $Mg^{2+}$  유리가 증가되었으며 이러한 증가는 멜라토닌 전 처치에 의하여 억제되었다(Fig 5). 또한 phenylephrine에 의한  $Mg^{2+}$  유리가 PKC 활성화제인 PMA 존재 하에서 강화되었으며 이러한 강화 효과가 멜라토닌에 의해서 억제되었다(Fig 6).

## 고 찰

생체에서 멜라토닌 효과는 세포막에 위치한 선택적 수용체와 두 G-단백의 연결에 의해 증대된다<sup>20,21</sup>. 이 수용체는 cAMP, cGMP, DAG, IP<sub>3</sub> 및 세포 내 Ca<sup>2+</sup>과 같은 2nd messenger를 조절하여 다양한 효과를 보이는데<sup>6</sup> 많은 경우 세포에서 cAMP 축적 및 phospholipid 대사를 억제하는 등 멜라토닌은 다른 2nd messenger 활성화 약물의 작용을 억제한다<sup>10,22</sup>. 이는 멜라토닌이 이러한 2nd messenger에 영향을 미치지 때문에 특정 신호 전달계에 관련된 궁극적인 생리학적 효과가 변동될 수 있음을 의미한다. 예를 들면 멜라토닌이 phosphodiesterase(PDE)를 활성화시켜 cAMP의 불활성화를 촉진시킨다는 보고도 있으나 이보다 AC 활성 억제를 통해 cAMP 축적을 감소시킨다는 결과가 믿을 만 하다<sup>10,23</sup>. 또한 멜라토닌이 직접적으로 PKC 활성을 억제할 수 있지만 이보다 PLC 활성을 억제함으로써 IP<sub>3</sub>와 DAG 형성을 억제한다고 한다<sup>8</sup>. 따라서 멜라토닌은 상기와 같은 신호 전달계에 의한 생체 내 이온을 조절할 수 있기 때문에 본 연구에서는 이제까지 보고된 바 없는  $Mg^{2+}$  조절에 대한 멜라토닌의 효과를 알아보고자 하였다. 최근 Keenan *et al*<sup>24</sup>은  $\beta$ -수용체 효현제와 cAMP에 의한  $Mg^{2+}$  유리 효과가 insulin에 의해 억제됨을 관찰하여 당뇨와 저마그네슘혈증과의 관련성을 추론하였으며, 이 억제 작용은 insulin의 calmodulin-의존성 PDE 활성화에 의한 cAMP 감소에 의해 나타난다고 추측하였다<sup>25</sup>. 따라서 이 연구에서는 멜라토닌이 상기와 같이 cAMP, IP<sub>3</sub> 및 DAG와 같은 2nd messenger 형성을 억제한다는 보고<sup>8,10</sup>를 근거로 멜라토닌의  $Mg^{2+}$  유리 조절 효과를 관찰하였다.

이제까지  $Mg^{2+}$ 의 역할은 비교적 잘 밝혀졌으나 그 조절에 대한 연구는 최근에 이루어지고 있다. 각종 세포 및 조직에서 가장 잘 알려진  $Mg^{2+}$  조절 기전은 Na<sup>+</sup>-Mg<sup>2+</sup> 교환기에 의한 세포내의  $Mg^{2+}$  항상성 조절이다<sup>26</sup>. 이 교환기를 조절할 수 있는 약물 또는 신경전달 물질로서 norepinephrine과 같은 AC 활성화 약물이 있는데, AC 활성화에 의한 cAMP 증가가 이 교환기를 자극한다고 한

다<sup>13</sup>. 또한  $IP_3$  나  $Ca^{2+}/calmodulin$  계에 의한  $Mg^{2+}$  유리 효과가 보고된 바 있고<sup>27</sup> 이와는 대조적으로 muscarinic, vasopressin 및 dopaminergic 수용체 자극에 의한 cAMP 감소 또는 PKC 활성화를 통한  $Mg^{2+}$  유입 증가 효과가 알려져 있다<sup>13,28,29</sup>. 이와 같이 신호전달계를 조절하는 약물이나 생체 내 호르몬 등이 생체 내  $Mg^{2+}$  항상성을 조절할 수 있음을 알 수 있다. 그러나  $Mg^{2+}$ 을 조절할 수 있다고 알려진 요인이나 물질의 종류는 극히 소수에 불과하다. 따라서 이 연구에서는 멜라토닌에 의한  $Mg^{2+}$  조절 가능성과 특정 약물에 의한  $Mg^{2+}$  유리 효과에 미치는 멜라토닌의 영향만을 제시하고자 하였다.  $Mg^{2+}$  항상성에 미치는 멜라토닌의 효과를 관찰하기 위해 기니피프 심장에 적정 멜라토닌이 함유된  $Mg^{2+}$  free 영양액을 관류시켜 멜라토닌을 처리하지 않을 경우와 비교한 결과 멜라토닌은  $Mg^{2+}$  유리를 증가시켰다. 멜라토닌이 cAMP를 감소시킨다는 이전의 보고<sup>10</sup>를 근거로 할 때 멜라토닌에 의한  $Mg^{2+}$  유리 증가는 이전의 연구 결과와 상반된 결과이다. 이 연구에서 멜라토닌의  $Mg^{2+}$  유리 촉진 기전을 규명할 수 있는 실험은 실시하지 못했으나 어떠한 신호 전달계나 이온 조절계에 의해 이러한 효과가 나타남을 추측할 수 있었다. 멜라토닌의  $Mg^{2+}$  유리 효과에 관련되었다고 추측되는 두 체계 중 이온 조절계로  $Na^+$  이나  $Ca^{2+}$ 에 의한  $Mg^{2+}$  조절이 밝혀진 바 있다<sup>26,27</sup>. 따라서 멜라토닌이 신호전달계 조절을 통해  $Mg^{2+}$ 을 조절하지 않는다 하여도 멜라토닌에 의해 세포 내로의  $Ca^{2+}$  과  $Na^+$ 의 유입이나 유동이 조절된다는 보고<sup>9,30</sup>를 근거로 할 때, 직접적으로 이들 이온 조절에 의해  $Mg^{2+}$  유리 효과가 나타날 것으로 추측된다. 한편 cAMP를 증가시킬 수 있는 약물 즉, AC 활성제인 forskolin과 Gs-단백을 경유하여 cAMP를 증가시키는  $H_2$ -histaminergic 수용체 효현제인 dimaprit,  $\beta$ -adrenoceptor 효현제인 isoproterenol 및 epinephrine은 현저하게  $Mg^{2+}$  유리를 촉진시켰다. 이러한 결과는 이전 많은 연구 결과와 일치하는 것으로 cAMP에 의한  $Mg^{2+}$  유리 효과를 뒷받침하였다. 그러나 멜라토닌은 이들 효과를 억제하지 못하여 멜라토닌이  $Mg^{2+}$  항상성에 관여하는 기전은 cAMP를 통한 경로가 아닌 다른 작용 경로일 것임을 추측할 수 있다. 반면, phenylephrine에 의한  $Mg^{2+}$  유리 효과는 prazosin에 의해 차단되었으며(자료 미제시), 이미 관류 기니피프 심장에서 phenylephrine에 의한  $Mg^{2+}$  유리 증가 효과는  $\alpha_1$ -adrenoceptor에 선택적이며 직접적인 효과임이 밝혀졌다<sup>31</sup>. 그리고 이 실험에서 phenylephrine에 의한  $Mg^{2+}$  유리 효과가 멜라토닌 전 처치에 의해 억제되었다. 따라서 멜라토닌은 cAMP와 관련된 경로라기 보다는  $\alpha_1$ -adrenoceptor 자극에 의해 활성화될 수 있는 PLC 관련 신호전달체계를 경유하여  $Mg^{2+}$  항상성 조절에 관여할

것이라 추측하였다. 관류 기니피프 심장에서 phenylephrine에 의한  $Mg^{2+}$  유리 증가 효과는  $\alpha_1$ -adrenoceptor에 선택적이며 직접적인 효과임이 밝혀졌다<sup>31</sup>. Phenylephrine이  $\alpha_1$ -adrenoceptor 자극시 세포막의 PLC가 활성화되어 PIP<sub>2</sub>가 가수분해됨으로써 두 종류의 2nd messenger인  $IP_3$ 와 DAG로 되고<sup>32</sup>,  $IP_3$ 는 세포 내  $Ca^{2+}$  유리를 자극하고, DAG는 PKC를 활성화시킨다. 쥐의 심장, 심근 세포에서 PKC 활성화는 세포 내  $Mg^{2+}$  유입을 증가시키고<sup>28</sup> phenylephrine에 의한  $Mg^{2+}$  유리 증가 효과는 신호전달계 중 PKC 활성화보다는  $IP_3$ 와  $Ca^{2+}/calmodulin$ 에 의존적인 결과<sup>27</sup>임이 밝혀진 바 있다. 또한 본 실험에서 PKC 활성제인 PMA 전 처치 후 phenylephrine을 관류시킨 결과  $Mg^{2+}$  유리가 강화되었다. 이는 이미 보고<sup>33</sup>된 바와 같이 PKC 활성화에 의한  $Ca^{2+}$  활성화도 증가시  $\alpha_1$ -adrenoceptor 자극 결과이거나 이미 PKC가 활성화되었기 때문에 다른 경로인  $IP_3$ 와  $Ca^{2+}/calmodulin$  자극 효과만 나타나  $Mg^{2+}$  유리가 강화된 것으로 추측된다. 따라서  $\alpha_1$ -adrenoceptor 자극에 의한 유리 효과가  $IP_3$  나  $Ca^{2+}/calmodulin$  자극 결과라고 추측한다면 이 유리 강화 효과가 멜라토닌에 의하여 차단되었기 때문에 멜라토닌은  $IP_3$  나  $Ca^{2+}/calmodulin$  경로를 억제할 수 있다고 사료된다. 그러나 본 실험 결과만으로는 확인할 수 없고 단지 멜라토닌은 이전 단계인  $IP_3$ 와 DAG를 조절하는 PLC를 억제하여  $Mg^{2+}$  유리를 억제할 수 있을 것으로 사료된다.

이상의 결과로 기니피프 관류 심장에서 멜라토닌은  $Mg^{2+}$  항상성 조절에 관여하고, cAMP 관련 신호전달체계보다는  $\alpha_1$ -adrenoceptor 전달체계 억제를 통하여  $Mg^{2+}$  유리에 관여하고 있음을 알 수 있었다. 그러나 이 연구 결과는 단지 관류 심장에서 소수의 약물만을 적용한 결과이기 때문에  $Mg^{2+}$  조절 기전에 대한 더 많은 연구가 이루어져야 할 것으로 사료된다.

## 결론

이전의 몇몇 연구에 의하면 cAMP의 농도 변동은  $Mg^{2+}$ 의 항상성에 영향을 미친다고 하였다. 따라서 세포 내 cAMP 농도 및 PLC 활성을 감소시키는 멜라토닌이  $Mg^{2+}$  유리 조절에 관여할 것이라 추측하고 멜라토닌에 의한  $Mg^{2+}$  유리 조절 효과를 확인하고자 연구를 실시하였다. 기니피프 관류 심장에서  $Mg^{2+}$  free 영양액이나 멜라토닌을 함유한  $Mg^{2+}$  free 영양액을 관류시켜 관류액 내의  $Mg^{2+}$  농도를 AA로 측정된 결과 멜라토닌은  $Mg^{2+}$  유리를 증가시켰다. 또한 관류심장에서 forskolin, isoproterenol 또는 dimaprit는 현저하게  $Mg^{2+}$ 을 유리시켰으며, 이들 유리 효과가 멜라토닌에 의해 억제되지 않았다. 그리고  $\alpha_1$ -adrenoceptor 효현제인 phenylephrine을 동일한 방법으로

로 관류시킨 결과  $Mg^{2+}$ 이 유리되었고, 이  $Mg^{2+}$  유리 효과가 멜라토닌에 의하여 억제되었다. 또한 phenylephrine에 의한  $Mg^{2+}$  유리 효과가 PKC 활성제인 PMA에 의하여 강화되었으며, 이 강화 효과가 멜라토닌에 의해 억제되었다.

이상의 결과에 의하면 기니피크 관류 심장에서 멜라토닌은  $Mg^{2+}$  항상성 조절에 관여하고, 이러한 작용은 멜라토닌이  $\alpha_1$ -adrenoceptor 자극에 의한  $Mg^{2+}$  유리 효과를 억제하는 것으로 보아 PLC 경유 신호전달체계 억제를 통해 나타나는 것으로 판단된다.

### 참고문헌

- Vaughan GM, Pelham RW, Pang SF, et al. Nocturnal elevation of plasma melatonin and urinary 5-hydroxyindoleacetic acid in young men: attempts at modification by brief changes in environmental lighting and sleep and by autonomic drugs. *J Clin Endocrinol Metab*, 42:752-764, 1976.
- Pierrefiche G, Laborit H. Oxygen free radicals, melatonin, and aging. *Exp Gerontol*, 30:213-225, 1995.
- Beyer CE, Steketee JD, Saphier D. Antioxidant properties of melatonin - an emerging mystery. *Biochem Pharmacol*, 56:1265-1272, 1998.
- Illnerova H, Zvolisky P, Vanecek J. The circadian rhythm in plasma melatonin concentration of the urbanized man: the effect of summer and winter time. *Brain Res*, 328:186-189, 1985.
- Heim MH, Blum M, Beer M, et al. Acetylation of serotonin in the rabbit pineal gland: an N-acetyltransferase with properties distinct from NAT1 and NAT2 is responsible. *J Neurochem*, 57:1095-1099, 1991.
- Carlson LL, Weaver DR, Reppert SM. Melatonin signal transduction in hamster brain: inhibition adenylyl cyclase by a pertussis toxin-sensitive G protein. *Endocrinology*, 125:2670-2676, 1989.
- Viswanathan M, Hissa R, George JC. Suppression of sympathetic nervous system by short photoperiod and melatonin in the Syrian hamster. *Life Sci*, 38:73-79, 1986.
- Vanecek J, Vollrath L. Melatonin modulates diacylglycerol and arachidonic acid metabolism in the anterior pituitary of immature rats. *Neurosci Lett*, 110:199-203, 1990.
- Zhang QZ, Zhang JT. Inhibitory effects of melatonin on free intracellular calcium in mouse brain cells. *Chung Kuo Yao Li Hsueh Pao*, 20:206-210, 1999.
- Vacas MI, Keller Sarmiento MI, Cardinali DP. Melatonin increases cGMP and decreases cAMP levels in rat medial basal hypothalamus in vitro. *Brain Res*, 225:207-211, 1981.
- Grubbs RD, Maguire ME. Magnesium regulatory cation: Criteria and evaluation. *Magnesium*, 6:113-127, 1987.
- White RE, Hartzell HC. Effect of intracellular free magnesium on calcium current in isolated cardiac myocytes. *Science*, 239:778-780, 1988.
- Romani A, Scarpa A. Norepinephrine evokes a marked  $Mg^{2+}$  efflux from liver cells. *FEBS Lett*, 269:37-40, 1990.
- Keenan D, Romani A, Scarpa A. Differential regulation of circulating  $Mg^{2+}$  in the rat by  $\beta_1$ - and  $\beta_2$ -adrenergic receptor stimulation. *Circ Res*, 77:973-983, 1995.
- Watanabe J, Nakayama S, Matsubara T, et al. Regulation of intracellular free  $Mg^{2+}$  concentration in isolated rat hearts via beta-adrenergic and muscarinic receptors. *J Mol Cell Cardiol*, 30:2307-2318, 1998.
- Kang HS, Chang SE, Kang CW, et al. Effect of histamine  $H_2$ -receptor stimulation on  $Mg^{2+}$  efflux in perfused guinea pig heart. *Korean J Physiol Pharmacol*, 2:49-54, 1998.
- Wolf FI, Di Francesco A, Covacci V, et al. cAMP activates magnesium efflux via the  $Na^+/Mg^{2+}$  antiporter in ascites cells. *Biochem Biophys Res Commun*, 202:1209-1214, 1994.
- Zhang GH, Melvin JE. Regulation by extracellular  $Na^+$  of cytosolic  $Mg^{2+}$  concentration in  $Mg^{2+}$ -loaded rat sublingual acini. *FEBS Lett*, 371:52-56, 1995.
- Kim JS, Scarpa A. Regulation of magnesium release by cAMP during chemical hypoxia in the rat heart and isolated ventricular myocytes. *Kor J Physiol Pharmacol*, 3:59-68, 1999.
- Popova JS, Dubocovich ML. Melatonin receptor-mediated stimulation of phosphoinositide breakdown in chick brain slices. *J Neurochem*, 64:130-138, 1995.
- Iuvone PM, Gan J. Melatonin receptor-mediated inhibition of cyclic AMP accumulation in chick retinal cell cultures. *J Neurochem*, 63:118-124, 1994.
- Daniolos A, Lerner AB, Lerner MR. Action of light on frog pigment cells in culture. *Pigment Cell Res*, 3:38-43, 1990.
- Morgan PJ. Molecular signalling via the melatonin receptor. *Adv Pineal Res*, 5:191-197, 1991.
- Keenan D, Romani A, Scarpa A. Regulation of  $Mg^{2+}$  homeostasis by insulin in perfused rat livers and isolated hepatocytes. *FEBS Letters*, 395:241-244, 1996.
- Smoake JA, Moy GMM, Fang B, et al. Calmodulin-dependent cyclic AMP phosphodiesterase in liver plasma membranes: stimulated by insulin. *Arch Biochem Biophys*, 323:223-232, 1995.
- Gunzel D, Schlue WR. Sodium-magnesium antiport in Retzius neurones of the leech *hirudo medicinalis*. *J Physiol*, 491:595-608, 1996.
- Kang HS, Chang SE, Kim JS. Regulation of  $Mg^{2+}$  release in guinea pig heart and isolated ventricular myocytes by  $\alpha_1$ -adrenergic stimulation. *Korean J Physiol Pharmacol*, 1:717-730, 1997.
- Romani A, Marfella C, Scarpa A. Regulation of  $Mg^{2+}$  uptake in isolated rat myocytes and hepatocytes by protein kinase C. *FEBS Lett*, 296:135-140, 1992.
- Zhang GH, Melvin JE. Intracellular  $Mg^{2+}$  movement

- during muscarinic stimulation:  $Mg^{2+}$  uptake by the intracellular  $Ca^{2+}$  store in rat sublingual mucous acini. *J Biol Chem*, 269:10352-10356, 1994.
30. Nakamura T, Gold GH. A cyclic nucleotide-gated conductance in olfactory receptor cilia. *Nature*, 325:442-444, 1987.
  31. Hwang SC, Kim SJ, Kang HS, *et al.* Effects of  $\alpha_1$ -adrenoceptor stimulation on  $Mg^{2+}$  release in perfused guinea pig heart. *Kor J Vet Res*, 36:327-335, 1996.
  32. Otani H, Hitomi, Dipak KD. Evidence that phosphoinositide response is mediated by  $\alpha_1$ -adrenoceptor stimulation, but not linked excitation contraction coupling in cardiac muscle. *Biochem Biophys Res Comm*, 136:863-869, 1986.
  33. Chang SE, Kang HS, Kim JS. Effects of phenylephrine-induced PKC activation on  $Mg^{2+}$  release guinea pig heart and isolated ventricular myocytes. *Kor J Vet Res*, 38:29-42, 1998.