

쥐 대동맥 혈관 내피세포에서 세포 외 K⁺에 의한 혈관 수축성 조절 기전

안 재 호* · 유 지 영**

Extracellular K⁺ Effects on the Mouse Aortic Endothelial Cell Contractility

Jae Ho Ahn, M.D.* , Ji Young You, M.D.**

Background: External stimuli increases intracellular (IC) Ca²⁺, which increases extracellular (EC) K⁺. To verify K⁺ effects on the vascular contraction, we performed an experiment using mouse aortic endothelial cell. **Material and Method:** We examined the mouse aortic contractility changes as we measured the IC Ca²⁺ change and ionic current by using the voltage clamp technique under different conditions such as; increasing EC K⁺, removing endothelial cell, giving L-NAME (N-nitro-L-arginine methyl ester) which suppress nitric oxide formation, Ouabain which control Na⁺-K⁺ pump and Ni²⁺ which repress Na⁺-Ca²⁺ exchanger. **Result:** When we increased EC K⁺ from 6 to 12 mM, there was no change in aortic contractility. Aorta contracted with more than 12 mM of EC K⁺. Acetylcholine (ACh) induced relaxation was inhibited with EC K⁺ from 6 to 12 mM, but was not found after deendothelialization or L-NAME treatment. ATP or ACh increased IC Ca²⁺ in cultured endothelium. After maximal increase of IC Ca²⁺, increasing EC K⁺ from 6 to 12 mM made IC Ca²⁺ decrease and re-decreasing EC K⁺ to 6 mM made IC Ca²⁺ increase. Ouabain and Ni²⁺ masked the inhibitory effect of endothelium dependent relaxation by increased EC K⁺. **Conclusion:** These data indicate that increase in EC K⁺ relaxes vascular smooth muscle and reduces Ca²⁺ in the endothelial cells which inhibit endothelium dependent relaxation. This inhibitory mechanism may be due to the activation of Na⁺-K⁺ pump and Na⁺-Ca²⁺ exchanger.

(Korean J Thorac Cardiovasc Surg 2003;36:887-893)

Key words: 1. Endothelium
2. Endothelium-dependent relaxing factor
3. Potassium

서 론

혈관평활근의 이완에 혈관내피세포가 필수적 역할을 한다고 Furchtgott 등이 처음 보고[1]한 이후 혈관내피세포의 역할에 대하여 많은 연구가 시행되었으며, 혈관평활근 수축성에 혈관내피세포가 매우 중요한 역할을 함이 알려

졌다. 즉 혈관내피세포는 nitric oxide (NO), endothelium-derived hyperpolarizing factor (EDHF), prostaglandin I₂ (PGI₂)와 같은 내피세포 유래 이완요소들(endothelium-derived relaxing factors, EDRF)을 분비하여 혈관평활근을 이완시키며[2-5], endothelin, endothelium-derived contracting factors 등과 같은 혈관 수축인자들을 분비하여 혈관평활근을 수

*이화여자대학교 의과대학 흉부외과학교실

Department of Thoracic & Cardiovascular Surgery, Mokdong Hospital, Ewha Women's University

**한림대학교 의과대학 응급의학과교실

Department of Emergency Medicine, Kangdong Sacred Heart Hospital, Hallym University

논문접수일 : 2003년 8월 22일, 심사통과일 : 2003년 10월 1일

책임저자 : 안재호 (158-710) 서울시 양천구 목동 911-1, 이대목동병원 흉부외과

(Tel) 02-2650-5151, (Fax) 02-2649-4930, E-mail: jhahn@mm.ewha.ac.kr

본 논문의 저작권 및 전자매체의 지적소유권은 대한흉부외과학회에 있다.

축시키는 것으로 밝혀졌다[1,6,7]. 혈관내피세포가 이러한 물질들을 생성, 분비하기 위해서는 혈관내피세포 내 Ca^{2+} 의 증가가 필수적인 것으로[8-12], 혈관평활근과 혈관내피세포의 Ca^{2+} -activated K^+ channel이 세포 내 Ca^{2+} 증가에 의해 활성화되면 K^+ 이 유출되어 세포 외 K^+ 농도가 증가하게 된다. 이외에도 혈관내피세포에서 분비되는 EDHF가 K^+ 이라는 보고가 있다[13]. 이렇게 정상적으로는 수 mM 정도로 낮게 유지되고 있는 세포 외 K^+ 의 농도는 세포 내 Ca^{2+} 증가에 의하여 수 mM 정도의 범위에서 변화할 수 있고[14,15], 이러한 세포 외 K^+ 농도의 변화는 혈관평활근의 수축성에 큰 영향을 주는 것으로 이해되고 있다. 이처럼 세포 외 K^+ 은 혈관평활근, 특히 저항혈관의 평활근 세포의 세포 내 Ca^{2+} 과 혈관평활근의 수축성에 매우 큰 영향을 주는 것이 잘 밝혀진 반면 세포 외 K^+ 이 혈관내피세포의 Ca^{2+} signaling, 내피세포의 존성 이완, EDRF의 분비에 미치는 영향 등에 대해서는 밝혀진 바가 전혀 없다. 그러므로 본 연구에서는 세포 외 K^+ 농도를 수 mM 변화시켰을 때 혈관평활근의 내피세포의 존성 이완에 미치는 영향과 혈관내피세포 내 Ca^{2+} 농도 변화를 밝히고자 하였다.

대상 및 방법

주령 8~16주된 ICR mouse를 암수 구별 없이 이용, 복강 내에 pentothal sodium (40 mg/kg)과 heparin (1,000 u/kg)을 주사하여 마취한 후, 정중 흉골절개로 흉부대동맥을 적출하여 그 주변 조직을 깨끗이 박리한 다음 실험에 사용하였다.

적출한 쥐 대동맥을 3 mm 간격으로 잘라 환형 절편을 만든 다음, 이 절편을 95% O_2 /5% CO_2 로 포화된 modified Krebs-Ringer 용액(NaCl 118.3, KCl 4.78, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 2.5, $\text{MgSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 1.2, KH_2PO_4 1.22, NaHCO_3 25.0, glucose 10 mM)이 3 ml/min의 속도로 흐르고 있는 실험용기에 옮겨 근육고정기와 근수축변환기를 연결하고 physiograph에서 등장성 수축을 기록하였다. 실험용기에서 1시간 정도 회복시킨 다음 피동장력이 0.8~2.0 g이 되게 절편의 길이를 늘려 주었으며, 각 실험 사이의 간격은 1시간 정도로 충분히 회복시킨 후 시행하였다. Norepinephrine (NE)을 사용하여 수축을 유발시킨 후 수축이 최대한 유발되었을 때 acetylcholine (ACh)을 투여하여 내피세포의 존성 이완을 일으키고 이완이 최대한 유발되었을 때 세포 외 K^+ 농도를 6 mM에서 12 mM까지 단계적으로 증가시키며 세포 외 K^+ 농도 증가가 내피세포의 존성 이완에 미치는 영향과 세포 외 K^+ 의 작용에 영향을 주는 여러 가지 약물들의 효

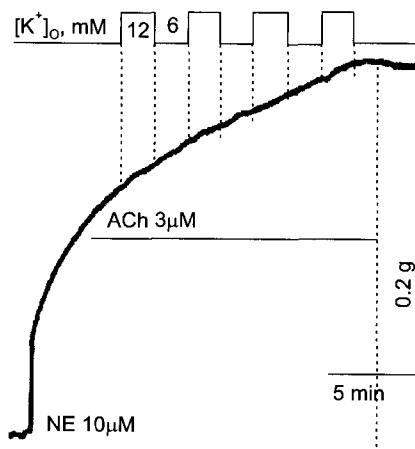
과를 관찰하였다.

분리 적출된 대동맥을 phosphate-buffered saline (PBS, Dulbecco without Ca^{2+} , Mg^{2+}) 속에서 혈관 주위 지방과 결체조직을 깨끗이 제거한 후 짧게 잘라 6 well plates에 Matrigel^R (Becton Dickinson, MA, USA)을 소량 넣고 혈관조각을 intima가 Matrigel에 면하도록 한 다음 배지를 소량 첨가하여 혈관조각이 Matrigel에 잘 붙도록 하였다[16,17]. 배지로는 80 ml Dulbecco's minimum essential medium (GIBCO-BRL 41965), 10 ml fetal calf serum (GIBCO-BRL 10270), 7.5 mg endothelial cell growth supplement (Sigma E-2759), 200 μl heparin (10 U/ml), 2 ml penicillin/streptomycin (100 U/ml, GIBCO-BRL 15070), 1 ml L-glutamine (GIBCO-BRL 25030-024), 1 ml minimal essential amino acids (GIBCO-BRL 11140-035)을 첨가하여 만들었다. 4~7일 후 혈관조각을 제거하고 혈관조각에서 자라나온 혈관내피세포들이 증식하게 하였다. Passage 1은 배지를 제거한 다음 dispase (Becton Dickinson, MA, USA) 2 ml/10 cm² (100 U)을 넣고 60분에서 90분간 incubation한 후 혈관내피세포를 얻어 12 well plate에 착상하여 만들고, Passage 2는 passage 1 세포가 혼탁하게 되면 Ca^{2+} free PBS으로 씻은 다음 trypsin을 이용하는 일반적인 방법으로 만들었다[18]. Passage 4까지는 형태적인 변화는 없었으며 기능 실험은 passage 2까지만 이용하였다.

분리된 혈관내피세포를 Ca^{2+} 과 결합할 수 있는 막투과성 형광 표지자인 Fura-2/AM (acetoxymethyl ester form)을 첨가하여 37°C에서 25분간 노출시켜 혈관내피세포에 부하시킨 다음 Krebs 용액으로 세척하여 실험에 사용하였다. 세포 내 Ca^{2+} 측정은 역상현미경(DM IRB, Leica, Germany)과 microscope photometer (D-104, Photon Technology International Inc, U.S.A.) 등으로 구성된 미세형광측정기를 사용하였다. Fura-2/AM이 부하된 세포에 340 nm와 380 nm의 두 파장을 번갈아 조사시키고 그 비도는 매초 10회로 하였다. Fura-2/AM으로부터 방출되어 나오는 510 nm의 형광을 photomultiplier tube를 이용하여 측정하고 그 비(F340/380)로 세포 내 Ca^{2+} 농도를 computer system에 의하여 계산하였다(Felix, version 1.4, PTI, U.S.A.). Ca^{2+} 측정에 사용된 용액은 150 mM NaCl, 6 mM KCl, 10 mM HEPES (4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazine-ethanesulphonic acid), 10 mM glucose, 1.5 mM CaCl_2 , 1 mM MgCl_2 을 첨가하여 만들고 pH는 7.4에 맞추었다.

모든 통계자료는 평균과 표준편차로 표현하고 유의성 정도는 paired T-test와 unpaired T-test로 하여 유의 수준 $p < 0.05$ 로 검증하였다.

A. Aorta without endothelium



B. Treated with L-NAME for 30 min

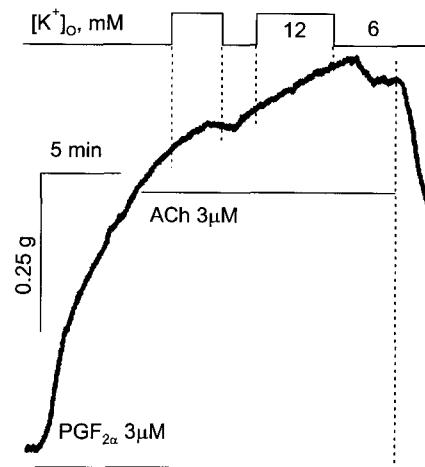


Fig. 1. Effect of extracellular K^+ on the contractility of mouse aortic smooth muscle. (A) endothelium was removed. (B) the aorta with endothelium was treated with N-nitro-L-arginine (L-NAME) for 30 minutes to inhibit NO synthesis. In both cases, the magnitude of contraction was not changed with the increase of $[K^+]$.

결과

쥐 대동맥은 세포외 K^+ 농도를 수 mM 정도 변화시켜도 수축력의 변화는 없었으나, 혈관내피세포를 제거하거나 (Fig. 1A), L-NAME을 전처치하여 NO 분비를 억제시킨 후 (Fig. 1B) NE이나 PG $F_{2\alpha}$ 를 투여하면 대동맥이 수축하였으며 ACh에 의한 내피세포 의존성 이완은 없었다. 그리고 세포 외 K^+ 농도를 6에서 12 mM로 증가시켜도 혈관평활근의 수축에는 변화가 없어, 수 mM 정도의 농도 변화는 쥐 대동맥 혈관평활근의 수축성에 영향을 주지 않음을 알 수 있었다. 한편 세포외 K^+ 농도를 12 mM 범위 이하에서 증가시키는 경우에는 혈관평활근의 수축력에는 변화가 없었으나 18 mM로 증가시키면 혈관평활근은 156 mM $[K^+]$ 에 의한 수축의 $21.6 \pm 5.2\%$, 30 mM로 증가시키면 $59.8 \pm 3.5\%$ 로 증가하였다 (Fig. 2).

쥐 대동맥은 NE 혹은 PG $F_{2\alpha}$ 에 의하여 수축이 유발되며 수축이 안정상태에 이르렀을 때 ACh를 투여하면 혈관내피세포가 있는 혈관은 이완 (Fig. 3)을 일으키지만, 혈관내피세포를 제거하거나 L-NAME을 전처치한 혈관에서는 수축력의 변화가 거의 없어 (Fig. 1) ACh에 의한 이완이 내피세포 의존성 이완임을 알 수 있었다. ACh에 의한 내피세포 의존성 이완이 최대로 유발되었을 때 세포외 K^+ 농도를 정상인 6 mM에서 12 mM로 증가시키면 대동맥의 수축력이 다시 증가하였으나 (Fig. 3), 혈관내피세포를 제거하였거나 L-NAME을 전처치한 경우 세포외 K^+ 농도 변화에 의한 수축력의 변화는 관찰되지 않았다. 한편 이러한 세포외 K^+ 농도 증가 효과는 PGF $F_{2\alpha}$ 와 NE에 의한 수

Dose-response to $[K^+]$ without endothelium

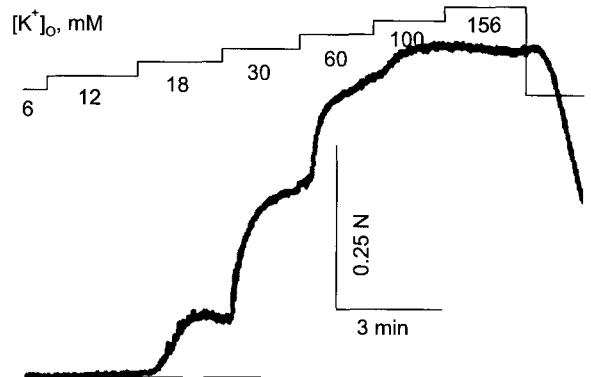


Fig. 2. K^+ -induced contraction in the mouse aorta. Extracellular K^+ can evoke vascular contraction at high concentration. On the other hand, there was no change of vascular tone at 12 mM $[K^+]$.

축 모두에서 관찰되어 세포외 K^+ 농도 변화가 수축제의 효과를 변화시켜 일어났을 가능성을 배제할 수 있었다. 본 실험 결과로 미루어 세포외 K^+ 농도를 수 mM 범위 내에서 증가시키는 경우 혈관평활근의 수축성에는 변화가 없이 농도 의존적으로 내피세포 의존성 이완을 억제하는데 이는 혈관내피세포에서 NO 분비를 억제한 결과로 추정되었다.

배양한 쥐 대동맥 내피세포에 ATP 혹은 ACh를 투여하면 세포 내 Ca^{2+} 이 증가하였고, 세포 내 Ca^{2+} 증가가 정점에 이른 다음 세포외 K^+ 농도를 6에서 12 mM로 증가시

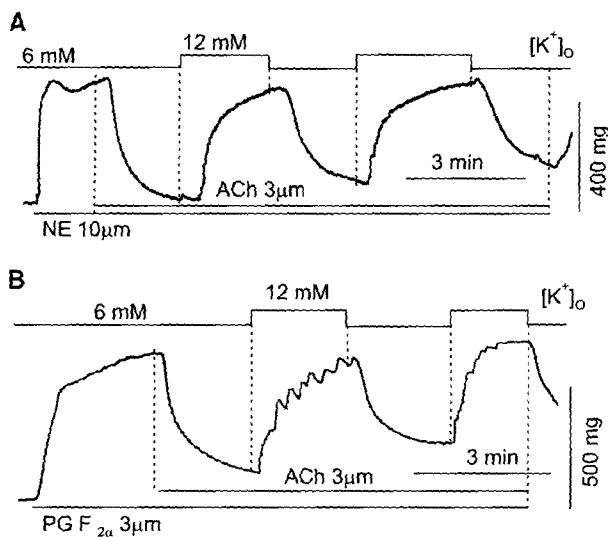


Fig. 3. Inhibition of endothelium-dependent relaxation (EDR) by increasing $[K^+]$. Mouse aorta was contracted by norepinephrine (NE) (A) or prostaglandin F_{2α}(PGF_{2α}) (B). When the contraction reached at a steady state, acetylcholine (ACh) was applied and aortic ring was relaxed. When $[K^+]$ was increased from 6 to 12 mM., aortic ring was re-contracted again. The inhibitory effect of extracellular K⁺ on EDR was reversible and independent on the vasoconstricting agents.

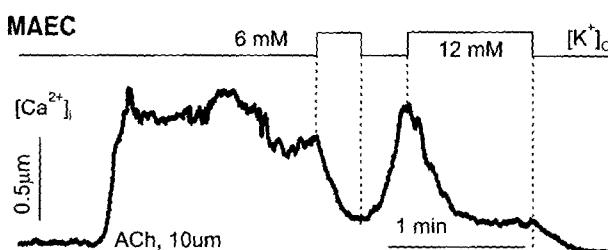


Fig. 4. Inhibition of agonist-induced increase of $[Ca^{2+}]$ with increasing $[K^+]$ from 6 to 12 mM. In mouse aortic endothelial cell (MAEC), ACh or ATP increased $[Ca^{2+}]$, while the increased $[Ca^{2+}]$ was inhibited by increasing $[K^+]$.

기면 세포 내 Ca^{2+} 이 감소하였으며 다시 6 mM로 감소시 키면 세포 내 Ca^{2+} 이 증가하였다(Fig. 4). 즉 농도 의존적 으로 혈관 내피세포 내 Ca^{2+} 증가를 억제하는 것으로 관찰되었다.

세포외 K⁺ 증가는 Na⁺-K⁺ pump를 활성화한다. 따라서 Na⁺-K⁺ pump 억제제인 Ouabain을 투여하면 K⁺에 의하여 억제된 내피세포 의존성 이완은 다시 증가하여 세포외 K⁺의 내피세포 의존성 이완 억제 효과가 억제됨을 알 수 있다(Fig. 5). 내피세포 의존성 이완을 유발한 다음 Oua-

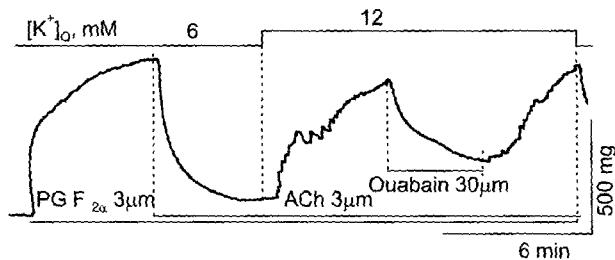


Fig. 5. Effect of Ouabain on the inhibitory effect of $[K^+]$ on endothelium-dependent relaxation. Note that Ouabain reversed the inhibited endothelium-dependent relaxation by extracellular K⁺.

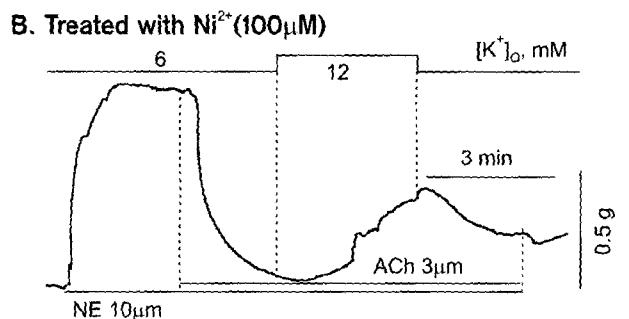
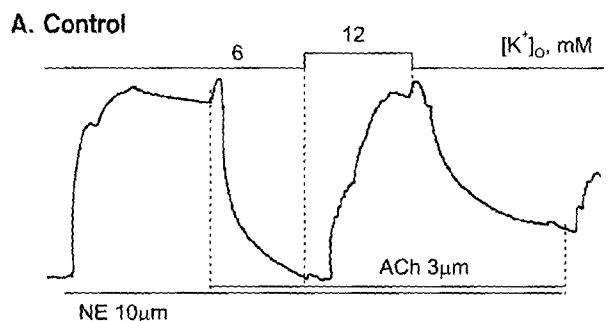


Fig. 6. Effect of Ni^{2+} on the inhibitory effect of $[K^+]$ on endothelium-dependent relaxation. Note that the increase of contraction was reduced by the pretreatment with Ni^{2+} (B), compared with the control (A).

bain을 투여하는 경우 내피세포 의존성 이완이 억제됨에도 불구하고 내피세포 의존성 이완이 증가하였다. 세포 외 K⁺의 내피세포 의존성 이완 억제 효과는 Ouabain 이외에도 Ni^{2+} 에 의하여 억제되어, Ni^{2+} 100 μM 로 전처치하면 NE에 의한 수축력에는 큰 변화가 없는 반면 세포 외 K⁺ 농도 증가에 의한 수축력 증가가 대조 실험에 비하여 감소하여, 세포 외 K⁺의 내피세포 의존성 이완 억제 효과는 Ni^{2+} 에 의하여 억제됨을 알 수 있었다(Fig. 6).

고 찰

세포외 K⁺ 증가에 의한 혈관평활근의 이완은 저항혈관의 중요한 수축성 조절 기전으로 잘 알려져 있다[1,13]. 세포외 K⁺이 수 mM 정도 증가하면 혈관평활근에 있는 inward rectifying K⁺ 전류와 Na⁺-K⁺ pump가 활성화되고 이로 인하여 막전압이 과분극되며, 이에 막전압 의존성 Ca²⁺ 통로가 막히게 되어 혈관평활근 세포 내 Ca²⁺이 감소하고 평활근육은 이완한다[8,9]. 본 연구에서 inward rectifying K⁺ 전류를 억제하는 Ca²⁺은 K⁺을 6에서 12 mM로 증가시키는 데 따른 이완을 억제한 반면 1에서 3 mM로 증가 시킬 때의 이완은 억제하지 않는 것으로 미루어, 저농도 K⁺에서의 이완은 Na⁺-K⁺ pump에 의한 가능성을 보여 준다.

혈관내피세포에서 EDRF의 분비는 세포 내 Ca²⁺ 증가에 의하여 유발되는데 NO가 EDRF 중의 하나로 잘 알려져 있다[3]. 본 실험에서는 세포외 K⁺ 농도의 증가는 세포내 Ca²⁺ 증가를 억제하고 내피세포 의존성 이완을 억제함을 관찰하였던바, 세포 외 K⁺ 농도를 수 mM 범위에서 증가시키면 혈관평활근의 수축이 유발되지 않았으며 혈관 수축제의 혈관평활근에 대한 sensitivity도 증가시키지 않았다. 그리고 혈관내피세포를 제거하거나 L-NAME으로 NO 생성을 억제한 경우 NE이나 PGF_{2α}에 의한 수축은 세포 외 K⁺ 농도를 6 mM 증가시켜도 변화가 없는 반면, 혈관내피세포가 있는 경우 ACh에 의한 이완은 감소되었는데, 이는 혈관내피세포에서 NO의 생성이 억제된 결과임을 추정할 수 있었다. 그리고 배양한 쥐 대동맥 혈관내피세포에서 ATP 혹은 ACh에 의하여 증가된 세포 내 Ca²⁺이 세포 외 K⁺ 농도를 수 mM 증가하는 경우 농도 의존적으로 억제되는 결과로 미루어 세포 외 K⁺ 증가에 의한 세포내 Ca²⁺ 감소가 NO 생성을 억제하고 그로 인하여 내피세포 의존성 이완이 억제되었을 것으로 추정할 수 있다.

Na⁺-K⁺ pump의 활동도는 세포외 K⁺ 농도에 의존적이므로 세포외 K⁺ 농도 증가는 Na⁺-K⁺ pump의 활동도를 증가시킨다. 따라서 Ouabain에 의하여 내피세포 의존성 이완에 대한 세포외 K⁺의 효과가 억제되어 Na⁺-K⁺ pump가 이 기전에 중요한 역할을 함을 추측할 수 있다. Na⁺-K⁺ pump가 억제되면 막전압이 저분극되고 세포내 Na⁺ 농도가 증가하여 Na⁺-Ca²⁺ exchange (reverse mode)가 활성화되어 세포 내 Ca²⁺이 증가하게 된다. 그러므로 Ouabain에 의하여 막전압이 저분극이 되면 혈관내피세포에서는 오히려 세포 내 Ca²⁺이 감소하게 되므로 Ouabain의 효과는

Na⁺-Ca²⁺ exchange (reverse mode)가 활성화되어 세포내 Ca²⁺이 증가한 결과로 추측된다(Fig. 5). 이러한 가정은 Na⁺-Ca²⁺ exchange의 억제제인 Ni²⁺을 이용하여 확인할 수 있었는바, 내피세포 의존성 이완을 억제하는 세포외 K⁺의 효과는 Ni²⁺에 의하여 억제되어 Na⁺-K⁺ pump와 함께 Na⁺-Ca²⁺ exchange가 중요한 역할을 하리라 추정된다. 즉 세포외 K⁺ 농도 증가에 의하여 Na⁺-K⁺ pump가 활성화되면 세포내 Na⁺ 농도가 감소하고 이로 인하여 Na⁺-Ca²⁺ exchange (forward mode)가 활성화되면 세포내 Ca²⁺이 감소하여 내피세포 의존성 이완이 억제되었으리라 사료된다.

한편 세포외 K⁺ 농도 증가는 여러 가지 경우에 관찰될 수 있다. 이는 세포내에는 많은 양의 K⁺이 있으므로 세포가 활성화되거나 혹은 세포가 죽는 경우 세포내 K⁺이 유출되어 세포외 K⁺ 농도는 증가할 수 있으며 특히 국소 부위나 혈행 장애가 있는 부위에는 쉽게 증가할 수 있을 것으로 추정할 수 있다. 그러므로 정상적인 상황에서는 세포가 자극을 받아 세포내 Ca²⁺이 증가하게 되면 대부분의 세포에서는 K⁺ 통로가 활성화되고 이 K⁺ 통로에 의하여 K⁺의 유출이 일어나 세포의 K⁺ 농도가 국소적으로 증가할 수 있다. 특히 혈관을 구성하는 평활근세포와 혈관내피세포에는 Ca²⁺-activated K⁺ channel이 발달되어 있는데 본 연구에서처럼 세포내 Ca²⁺ 농도가 증가되면 이러한 K⁺ channel이 활성화되어 K⁺ 유출이 일어난다. 이렇게 K⁺이 유출되어 세포외 K⁺ 농도가 국소적으로 증가하면 혈관내피세포의 Ca²⁺ 농도를 감소시키고 EDRF의 분비를 감소시킬 것으로 생각된다. 즉 증가된 Ca²⁺에 의하여 유출된 K⁺에 의하여 세포내 Ca²⁺이 저하되고 EDRF의 분비가 감소되는 negative feedback으로 작용하게 될 것으로 생각된다. 그리고 세포외 K⁺ 농도 증가는 여러 가지 병적 상황에서도 관찰될 수 있다. 예를 들어 화상환자의 경우 세포의 괴사로 세포내의 K⁺이 세포 밖으로 나와서 국소적인 K⁺ 농도증가나 고칼륨혈증이 생길 수 있고 이는 혈관내피세포의 기능에 손상을 입히게 되는데 이는 화상손상의 병태생리학적 과정에 있어서 중요한 역할을 하게 된다고 생각된다.

결 론

수 mM 범위에서의 세포외 K⁺ 농도 변화는 저항혈관에서는 혈관평활근의 수축성을 저하하고 혈관내피세포에서는 세포내 Ca²⁺을 감소시켜 내피세포 의존성 이완을 감소시켜 혈관평활근의 수축성을 조절하는데, 정상적 혹은 병

적인 상황에서 수 mM 범위에서의 세포외 K^+ 농도 변화는 쉽게 동반되므로 이 기전을 혈관의 수축성을 조절하는 매우 중요한 기전으로 생각된다. 한편 혈관 종류에 따른 혈관평활근에 대한 K^+ 작용 기전과 그 차이, 그리고 혈관내 피세포에 대한 작용 기전은 더 연구가 필요하다고 생각된다.

참 고 문 헌

1. Furchtgott RF, Vanhoutte PM. *Endothelium-derived relaxing and contracting factors*. *Faseb J* 1989;3:2007-18.
2. Feletou M, Vanhoutte PM. *Endothelium-dependent hyperpolarization of canine coronary smooth muscle*. *Br J Pharmacol* 1988;93:515-24.
3. Fleming I, Busse R. *NO: the primary EDRF*. *J Mol Cell Cardiol* 1999;31:5-14.
4. Palmer RM, Ferrige AG, Moncada S. *Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor*. *Nature* 1987;327:524-6.
5. Taylor SG, Weston AH. *Endothelium-derived hyperpolarizing factor: a new endogenous inhibitor from the vascular endothelium*. *Br J Pharmacol* 1988;9:272-4.
6. Vanhoutte PM. *Endothelium-dependent contractions in arteries and veins*. *Blood Vessels* 1987;24:141-4.
7. Yanagisawa M, Kurihara H, Kimura S, et al. *A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells*. *Nature* 1988;332:411-5.
8. Busse R, Lckhoff A, Mulsch A. *Cellular mechanisms controlling EDRF/NO formation in endothelial cells*. *Basic Res Cardiol* 1991;86(Suppl 2):7-16.
9. Carter TD, Pearson JD. *Regulation of prostacyclin synthesis in endothelial cells*. *News Physiol Sci* 1992;7:64-9.
10. Inagami T, Naruse M, Hoover R. *Endothelium: As an endocrine organ*. *Annu Rev Physiol* 1995;57:171-89.
11. Nilius B, Casteels R. *Biology of the vascular wall and its interaction with migratory and blood cells*. In: Greger R and Windhorst U. *Comprehensive human physiology*. Berlin Heidelberg: Springer Verlag. 1996;1981-94.
12. Nilius B. *Regulation of transmembrane calcium fluxes in endothelium*. *News Physiol* 1991;6:110-4.
13. Edwards G, Dora KA, Gardener MJ, Garland CJ, Weston AH. *K^+ is an endothelium-derived hyperpolarizing factor in rat arteries*. *Nature* 1998;396:269-72.
14. Jensen BS, Strbrk D, Christoffersen P, et al. *Characterization of the cloned human intermediate-conductance Ca^{2+} -activated K^+ channel*. *Am J Physiol* 1998;275:C848-C56.
15. Jow F, Sullivan K, Sokol P, Numann R. *Induction of Ca^{2+} -activated K^+ current and transient outward currents in human capillary endothelial cells*. *J Membr Biol* 1999;167:227-38.
16. Kubota Y, Kleinman HK, Martin GR, Lawley TJ. *Role of laminin and basement membrane in the morphological differentiation of human endothelial cells into capillary-like structures*. *J Cell Biol* 1988;107:1589-98.
17. McQuire PG, Seeds NW. *The interaction of plasminogen activator with a reconstituted basement membrane matrix and extracellular macromolecules produced by cultured epithelial cells*. *J Cell Biochem* 1989;40:215-27.
18. Voets T, Wei L, Desmet P, et al. *Downregulation of volume-activated Cl^- currents during muscle differentiation*. *Am J Physiol* 1997;272:C667-74.

=국문 초록=

배경: 외부 자극에 의해 세포 내 Ca^{2+} 이 증가하면 K^+ 이 유출되는 기전을 통해 세포 외 K^+ 이 증가하는데, 이 K^+ 의 증가가 혈관 수축에 미치는 영향을 규명하고자 쥐 대동맥 혈관내피세포를 이용해 실험을 시행하였다. 대상 및 방법: 세포 외 K^+ 농도를 증가시키거나, 혈관 내피세포의 제거, nitric oxide 생성 억제제인 L-NAME (N-nitro-L-arginine methyl ester)의 투여, Na^+-K^+ pump 억제제인 Ouabain, Na^+-Ca^{2+} exchanger 억제제인 Ni^{2+} 의 투여 등 조건을 달리하며, 막전압고정법을 이용, Ca^{2+} 변화와 여러 이온 전류 변화를 측정해 혈관의 수축성을 알아보았다. 결과: 세포외 K^+ 농도를 6에서 12 mM로 증가시켜도 norepinephrine에 의한 혈관의 수축성에는 변화가 없었고, 12 mM 이상으로 증가시키면 평활근이 수축하기 시작하였다. Acetylcholine (ACh)에 의해 유발된 내피세포 의존성 이완은 세포 외 K^+ 농도를 6에서 12 mM로 증가시키면 억제되었으며, 혈관내피세포를 제거하거나 L-NAME을 투여하는 경우에 ACh에 의한 이완은 일어나지 않았다. 배양한 쥐 대동맥 내피세포에서는 ATP 혹은 ACh에 의해 세포 내 Ca^{2+} 이 증가하였으며, 세포 내 Ca^{2+} 증가가 정점에 이른 후 세포 외 K^+ 을 6에서 12 mM로 증가시키면 세포 내 Ca^{2+} 이 농도 의존적으로 감소하였으나 다시 6 mM로 감소시키면 세포 내 Ca^{2+} 이 증가하였다. 또한 세포 외 K^+ 증가에 의한 내피세포 의존성 이완효과는 Ouabain과 Ni^{2+} 에 의하여 억제되었다. 결론: 세포 외 K^+ 의 증가는 저항혈관 평활근은 이완시키며, 혈관내피세포 Ca^{2+} 을 감소시켜 내피세포 의존성 이완을 억제하는데 이는 Na^+-K^+ pump와 Na^+-Ca^{2+} exchanger를 활성화시켜 일어나는 것으로 생각된다.

- 중심 단어 : 1. 내피세포
2. 내피세포 의존성 이완 인자
3. 칼륨