

## 흰쥐 대동맥에서 fluoxetine의 혈관 이완 효과

김상진 · 강형섭 · 김진상\*

전북대학교 생체안전성연구소

(게재승인: 2004년 8월 25일)

### Vasorelaxant effect of fluoxetine in isolated rat aorta

Shang-Jin Kim, Hyung-sub Kang and Jin-shang Kim\*

Bio-Safety Research Institute, Chonbuk National University, Jeonju 561-756, Korea

(Accepted: August 25, 2004)

**Abstract :** The vasorelaxant effect of serotonin reuptake inhibitor fluoxetine was investigated in rat isolated thoracic aorta. Fluoxetine induced a concentration-dependent relaxation in aorta precontracted with phenylephrine (PE) and KCl. These relaxations were suppressed by removal of the endothelium (-E) or pretreatment of nitric oxide synthase inhibitors, N(G)-nitro-L-arginine (L-NNA) and N(omega)-nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME), guanylate cyclase inhibitors, methylene blue (MB) and 1H-[1,2,4]oxadiazolo [4,3-a]quinoxalin-1-one (ODQ), and Ca<sup>2+</sup> channel blockers, nifedipine and verapamil, in PE-precontracted +E rings. However, fluoxetine-induced relaxations were not suppressed by pretreatment of K<sup>+</sup> channel blockers, tetrabutylammonium and glibenclamide, in PE-precontracted endothelium intact (+E) rings. The fluoxetine-induced relaxations were not suppressed by removal of the endothelium or pretreatment of L-NNA and MB in KCl-precontracted +E rings. Also, fluoxetine inhibited PE-induced sustained contraction in +E rings. These inhibitory effects of fluoxetine on contractions could be reversed by removal of the endothelium or pretreatment of L-NNA, L-NAME, MB, ODQ, nifedipine and verapamil, but not by pretreatment of tetrabutylammonium and glibenclamide. These findings suggest that the vasorelaxant effect of fluoxetine is modulated by intracellular Ca<sup>2+</sup> with an involvement of endothelial NO-cGMP pathway and also may be related to the inhibition of Ca<sup>2+</sup> entry through voltage-gated channel.

**Key words :** fluoxetine, endothelium, relaxation, Ca<sup>2+</sup> channel, rat, aorta

### 서 론

선택적으로 5-hydroxytryptamine (5-HT)의 재흡수를 억제하는 fluoxetine은 항우울제로 최근 광범위하게 사용되고 있다 [15]. 이 약물의 작용기전은 5-HT 재흡수 억제로 인한 신경 전달 활성화이다. 그러나 최근 연구에 의하면 fluoxetine은 항우울증 치료 외에 각종 조직에서 부작용이 나타날 수 있다. 이와 같은 부작용은 5-HT 재흡수 억제와 관련되지는 않는 것 같다. 예를 들면, 신경조직에서 acetylcholine [7] 및 5-HT 수용체 [19]를 길항하고 Na<sup>+</sup> 통로 [22]와 전압의존성 K<sup>+</sup> 통로 [30]를 차단한

다. 또한 중추신경에서 전압의존성 및 5-HT에 의한 세포내 Ca<sup>2+</sup> 증가를 억제한다고 하였다 [11, 13]. 또한 각종 평활근 기능에도 영향을 미치는데, fluoxetine은 흰쥐 장관 평활근에서 5-HT에 의한 수축을 길항하며 [17], Ca<sup>2+</sup> 통로를 억제하여 이완 효과를 나타내며 [21], 고농도 KCl (potassium chloride)에 의한 자궁 수축을 억제한다 [33].

최근까지 맥관계에서 fluoxetine의 부가적인 효과를 살펴보면, 분리 폐동맥 평활근 세포에서 5-HT에 의한 세포내 Ca<sup>2+</sup> 증가를 억제하며 [23], 흰쥐 뇌동맥 이완을 일으킬 뿐만 아니라 5-HT, norepinephrine (NE) 및 Ca<sup>2+</sup> 통

이 논문은 2004년도 전북대학교 생체안전성연구소 학술연구비의 일부지원으로 이루어졌음.

\*Corresponding author: Jin-shang Kim

Department of Pharmacology, College of Veterinary Medicine, Chonbuk National University, Chonju 561-756, Korea  
[Tel: +82-63-270-2554, Fax: +82-63-270-3780, E-mail: kimjs@chonbuk.ac.kr]

로 개구제에 의한 혈관 수축 반응을 억제하여 혈관 평활근에서  $Ca^{2+}$  신호 전달 기전을 억제할 가능성이 제시되었다 [32]. 그리고 흰쥐 골격근 동맥에서  $Ca^{2+}$ 에 의한 수축을 억제하여  $Ca^{2+}$  통로를 차단하거나  $Ca^{2+}$ 에 의한 신호 전달체계를 방해 [20]할 수 있고, 세포내로  $Ca^{2+}$  유입을 억제하여 세포내  $Ca^{2+}$  농도와 동맥 평활근의 긴장도를 감소시켜  $Ca^{2+}$ 과 길항 효과를 나타낸다는 보고 [31]가 있다. 상기와 같은 중추 신경계, 평활근 및 맥관계에서 실시한 연구결과들에 의하면 fluoxetine이 서로 다른 작용기전에 의하여 조직 또는 혈관을 이완시킬 수 있는 가능성을 제시하고 있다. 혈관 이완의 주요 기전으로 내피 세포 및 혈관 평활근에서 guanosine 3',5'-cyclic monophosphate (cGMP) 활성이 잘 알려져 있지만 fluoxetine에 의한 혈관 이완 기전과 cGMP 활성과의 관련성은 보고된 바 없을 뿐만 아니라 대동맥 이완에 대한 연구보고는 없다.

따라서 본 연구에서는 흰쥐 대동맥에서 fluoxetine의 혈관 이완 효과가 혈관 내피 유래 NO (nitric oxide)-cGMP 계 및  $Ca^{2+}$ 과의 관련성을 밝히고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 혈관 적출 및 수축력 측정

수컷 흰쥐 (Sprague-Dawley, 250~300 g)를 치사시켜 방혈시킨 후 흉대동맥을 적출하여 30°C의 산소포화 영양액(133.0 mM NaCl, 5.0 mM KCl, 2.5 mM  $CaCl_2$ , 1.2 mM  $MgSO_4$ , 1.0 mM  $KH_2PO_4$ , 11.0 mM glucose 및 12.0 mM  $NaHCO_3$ 과 95%  $O_2$ :5%  $CO_2$ , pH 7.3~7.4)으로 혈액을 제거한 다음 실체 현미경하에서 흉대동맥 주위의 지방 및 결합 조직편 등을 제거하고 약 2~3 mm의 길이로 절단하였다. 절단된 한 개의 혈관 고리를 상기 영양액이 관류( $4 \pm 0.5$  mL/min)되는 tissue chamber 내에 직경 50  $\mu$ m 고정핀에 고정하고 한쪽은 직경 25  $\mu$ m 은선에 연결된 고리에 연결한 후 tension transducer (400A, Cambridge, USA)에 연결하였다. 연결 후 250~300  $\mu$ g의 장력(정지 장력)을 준 후 안정되면 등장성 40 mM KCl의 영양액을 20~30분간 1~2회 관류시켜 장력을 안정시켰다. 장력 변동은 recording system (3400, Gould, USA)을 이용하여 기록하였다.

### 약물 처치 및 내피 제거

Phenylephrine(PE)을 투여하여 수축력이 일정해지면 농도 별 fluoxetine의 이완 효과를 관찰하고 동일 조직에서 혈관 내피를 제거하거나 여러 억제제들을 일정 시간 동안 전처리 한 후 다시 fluoxetine의 이완 효과를 관찰하여 비교하였다. 내피 존재 유무에 따른 실험은 내피가

존재한 상태에서 이완 효과를 관찰한 후 정지 장력이 유지된 상태에서 saponin(0.3 mg/mL)을 영양액에 녹여 12~15분간 관류시켜 내피를 제거하고 다시 fluoxetine의 이완 효과를 관찰하였다. 내피 존재 유무는 0.5  $\mu$ M의 acetylcholine을 투여하여 그 이완 여부로 내피 제거 상태를 확인하였다. 이와 같이 영양액이 관류되는 tissue chamber 내에서 saponin에 의한 내피 제거는 동일 조직에서 내피 유무에 따른 병행 실험에 유용하였다. Fluoxetine의 PE의 혈관 수축 억제 효과는 PE를 2~3회 처치하여 일정한 정도의 수축값을 얻은 후 단일 농도의 fluoxetine을 일정 시간 동안 전처리 한 후 다시 PE의 수축값을 얻어 그 억제 정도를 백분율(%)로 환산하였다. 그 후 동일 조직에서 혈관 내피를 제거하거나 여러 억제제들을 일정 시간 동안 전처리 한 후 다시 fluoxetine에 의한 PE 수축 억제 정도를 얻어 fluoxetine에 의한 수축력 억제 효과에 대한 혈관 내피 및 여러 억제제들의 효과를 관찰하였다.

### 사용 약물 및 통계처리

Phenylephrine, acetylcholine, saponin, nifedipine, tetrabutylammonium, glibenclamide, verapamil, L-N<sup>G</sup>-nitro-arginine methyl ester (L-NAME), L-N<sup>G</sup>-nitro-arginine (L-NNA), methylene blue (MB) 및 1H-[1,2,4]oxadiazolo [4,3-a]quinoxalin-1-one (ODQ)은 Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, USA)로부터 구입하였고, fluoxetine은 Lilly Co. (Indiana, USA)로부터 기증 받아 사용하였다. 실험 성적은 mean  $\pm$  SE로 나타내었고, 각 실험 결과의 유의성은 Student's *t*-test에 의해 검정하였다.

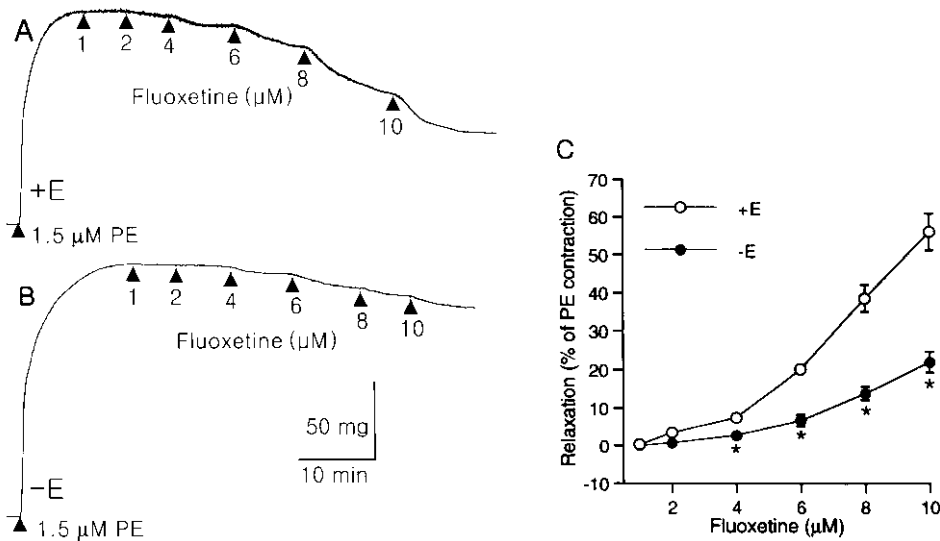
## 결 과

### PE 수축 혈관에서 내피 제거가 fluoxetine의 혈관 이완 작용에 미치는 영향

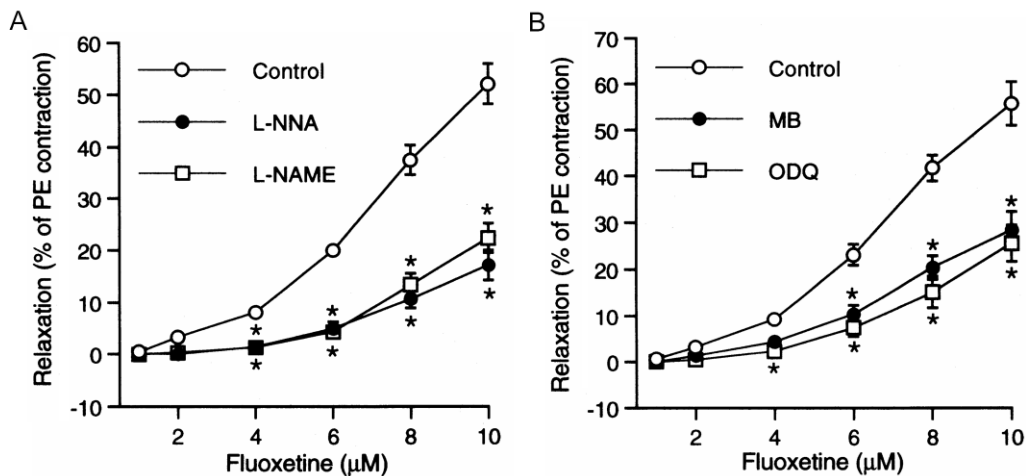
내피가 존재하는 혈관을 PE로 수축시킨 후 1, 2, 4, 6, 8 및 10  $\mu$ M fluoxetine을 투여한 결과, 농도 의존적으로 혈관을 이완시켰고, 동일 조직에 saponin을 처리하여 혈관 내피를 제거한 후 혈관을 PE로 수축시키고 상기와 동일 농도의 fluoxetine을 투여한 결과, 농도 의존적으로 혈관을 이완시켰으나 내피 존재 혈관에서보다 유의성 있게 혈관 이완 효과가 억제되었다(Fig. 1).

### NOS(nitric oxide synthase)와 GC(guanylate cyclase) 억제제가 fluoxetine의 혈관 이완 작용에 미치는 영향

내피가 존재하는 혈관에서 농도 별 fluoxetine의 이완 효과를 관찰한 후 NOS 억제제인 100  $\mu$ M L-NAME 또



**Fig. 1.** A: Typical tracings of the effect of fluoxetine on phenylephrine (PE)-precontracted isolated rat aortic rings with (+E, A) or without (-E, B) endothelium. Endothelium was denuded by adding saponin (SP) to the perfusing medium. C: The data summary shows fluoxetine's concentration-dependent relaxation in +E and -E aortic ring. Each point represents means±SE expressed as percentage (%) of PE-induced maximum contraction. \**p*<0.05 vs. +E; *n*=5.

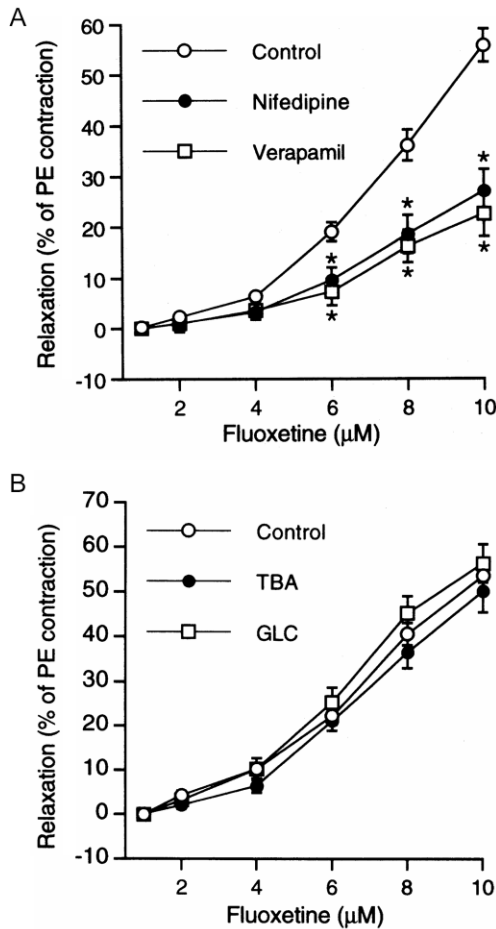


**Fig. 2.** Effects of NOS inhibitors (A, 10 μM L-NNA and 100 μM L-NAME) and GC inhibitors (B, 20 μM methylene blue, MB and 10 μM ODQ) on the fluoxetine-induced relaxation in PE-precontracted +E rings. Each point represents means±SE expressed as percentage (%) of PE-induced maximum contraction. \**p*<0.05 vs. control (in the absence of NOS and GC inhibitors); *n* = 4~8.

는 10 μM L-NNA, 그리고 GC 억제제인 20 μM MB 또는 10 μM ODQ을 포함하는 영양액을 각각 50~60분 동안 관류시켰다. 다음 PE로 수축시킨 후 상기와 같은 농도 별 fluoxetine을 투여한 결과 각각의 NOS 및 GC 억제제에 의하여 fluoxetine의 혈관 이완 효과가 유의성 있게 억제되었다(Fig. 2).

Ca<sup>2+</sup> 와 K<sup>+</sup> 통로 차단제가 fluoxetine의 혈관 이완 작용에 미치는 영향

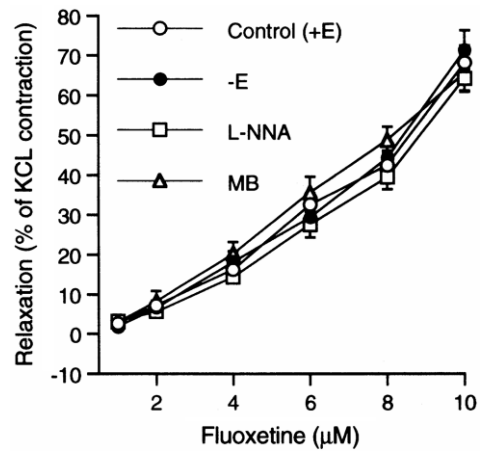
내피가 존재하는 혈관을 PE으로 수축시킨 다음 농도 별 fluoxetine의 이완 효과를 관찰한 후 전압 의존성 Ca<sup>2+</sup> 통로 억제제인 0.5 μM nifedipine 또는 5 μM verapamil, 그리고 K<sup>+</sup> 통로 차단제인 1 mM TBA 또는 100 μM



**Fig. 3.** Effects of  $\text{Ca}^{2+}$  channel blockers (A,  $0.5 \mu\text{M}$  nifedipine and  $5 \mu\text{M}$  verapamil) and  $\text{K}^{+}$  channel blockers (B,  $1 \text{ mM}$  tetrabutylammonium; TBA and  $100 \mu\text{M}$  glibenclamide; GBC) on the fluoxetine-induced relaxation in PE-precontracted +E rings. Each point represents means $\pm$ SE expressed as percentage (%) of PE-induced maximum contraction. \* $p < 0.05$  vs. control (in the absence of  $\text{Ca}^{2+}$  channel blockers);  $n = 5 \sim 10$ .

glibenclamide을 포함하는 영양액을 각각 전치치하였다. 그리고 PE로 수축시킨 후 상기와 같은 농도 별 fluoxetine을 투여한 결과,  $\text{Ca}^{2+}$  통로 억제제들에 의하여 fluoxetine의 혈관 이완 효과가 유의성 있게 억제되었으나(Fig. 3A)  $\text{K}^{+}$  통로 차단제들에 의해서는 억제되지 않았다(Fig. 3B).

고농도 KCl 수축 혈관에서 내피제거, L-NNA 및 MB가 fluoxetine의 혈관 이완 작용에 미치는 영향 상기와 유사하게 내피가 존재하는 혈관을  $40 \text{ mM}$

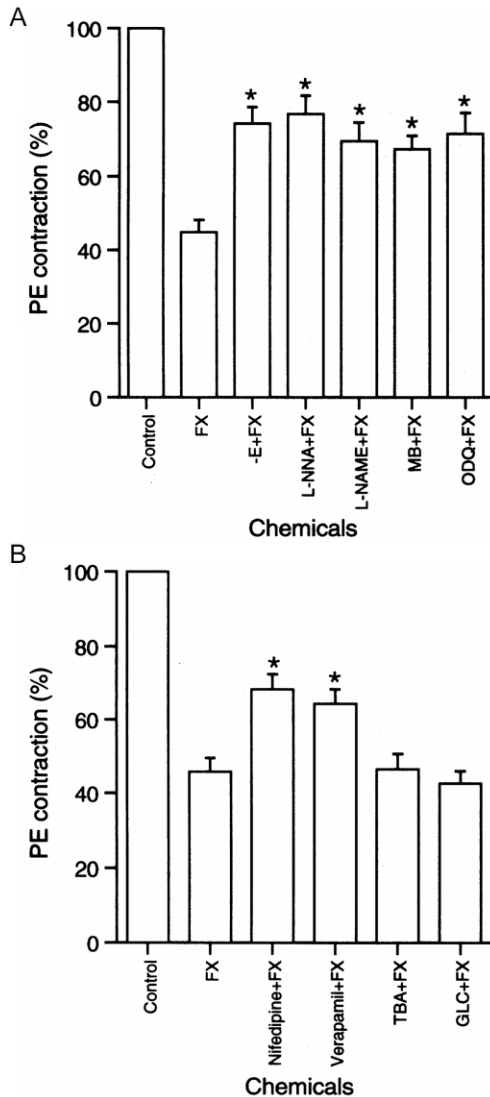


**Fig. 4.** Effects of fluoxetine on  $40 \text{ mM}$  KCl-precontracted aortic rings with (control, +E) or without (-E) endothelium, and effects of  $10 \mu\text{M}$  L-NNA and  $20 \mu\text{M}$  MB on the fluoxetine-induced relaxation in +E rings. Each point represents means $\pm$ SE expressed as percentage (%) of KCl-induced maximum contraction;  $n = 5 \sim 10$ .

KCl로 수축시킨 후  $1, 2, 4, 6, 8$  및  $10 \mu\text{M}$  fluoxetine을 투여한 결과 농도 의존적으로 혈관을 이완시켰고, 동일 조직에 saponin을 처리하여 혈관 내피를 제거하거나  $10 \mu\text{M}$  L-NNA 또는  $20 \mu\text{M}$  MB를  $40 \sim 50$ 분 동안 관류시켰다. 그리고 KCl로 수축시킨 후 상기와 같은 농도 별 fluoxetine을 투여한 결과, 내피제거 및 각각의 억제제에 의하여 fluoxetine의 혈관 이완 효과가 억제되지 않았다(Fig. 4).

#### 혈관 내피, NOS 억제제, GC 억제제 및 $\text{Ca}^{2+}$ 통로 차단제가 fluoxetine의 수축력 억제 효과에 미치는 영향

상기 PE 수축 혈관에서 fluoxetine은 농도 의존적으로 혈관을 이완시켰다. 즉, 이러한 결과에 의하면 fluoxetine은 PE에 의한 혈관 수축을 억제할 수 있음을 의미한다. 따라서 상기의 이완 실험 결과를 확인하기 위하여 fluoxetine의 PE에 의한 혈관 수축 억제 효과에 대한 억제제들의 영향을 관찰하였다. 내피가 존재하는 혈관에서 수축력이 안정된 후 PE의 최고 수축력을  $2 \sim 3$ 회 측정하였다(control, 100%). 그리고 PE를 제거하고 약 20분간 혈관을 안정시킨 후 적정농도의 fluoxetine을 30분간 투여한 후 다시 동일 농도 PE의 최고 수축력을 측정하여 fluoxetine이 존재하지 않은 상태에서의 수축력(100%)에 대한 수축력을 표시하였다. Fluoxetine은 역시 농도 의존적으로 PE에 의한 혈관 수축을 억제하였다(자료 미제시). 이후 실험은 단일 농도( $10 \mu\text{M}$ )의 fluoxetine



**Fig. 5.** Effects of saponin (-E; removal of endothelium, 0.3 mg/ml), 10  $\mu$ M L-NNA, 100  $\mu$ M L-NAME, 20  $\mu$ M MB, 10  $\mu$ M ODQ, 0.5  $\mu$ M nifedipine, 5  $\mu$ M verapamil, 1 mM TBA and 100  $\mu$ M GBC on the inhibition of PE-induced maximum contraction by 10  $\mu$ M fluoxetine (FX) in +E rings. Each bar represents means $\pm$ SE expressed as the percentage of the maximum contractile response to PE. \* $p$ <0.005 vs. FX(in the absence of each inhibitors and blockers); n= 5~10.

에 의한 수축력 억제에 대한 각종 약물의 효과를 관찰하였다. PE에 의한 수축력이 fluoxetine 전치리에 의하여  $44.90 \pm 3.23\%$ 로 억제되었다. 그러나 혈관 내피 제거, NOS 억제제인 10  $\mu$ M L-NNA과 100  $\mu$ M L-NAME, GC

억제제인 20  $\mu$ M MB와 10  $\mu$ M ODQ 그리고  $Ca^{2+}$  통로 억제제인 0.5  $\mu$ M nifedipine과 5  $\mu$ M verapamil을 각각 전치리한 혈관의 경우 PE에 의한 수축력은 fluoxetine에 의하여 각각 유의성 있게 억제되어 fluoxetine에 의한 수축력 억제 효과가 상기 각각의 억제제들에 의하여 유의성 있게 회복되었다. 그러나 fluoxetine에 의한 수축력 억제 효과가  $K^{+}$  통로 차단제들에 의해서는 억제되지 않았다(Fig. 5).

### 고 찰

세포내  $Ca^{2+}$  농도를 감소시켜 혈관을 이완시키는  $Ca^{2+}$  통로 차단은 두 기전에 의하여 일어난다. 즉, cGMP 활성화에 의한 protein kinase G (PKG) 활성화로 인한  $Ca^{2+}$  통로 차단이거나 직접적인  $Ca^{2+}$  통로 차단이다. 그 외 주요 혈관 이완 기전으로 PKG 활성화에 의한  $Ca^{2+}$  활성화  $K^{+}$  통로 활성화, 원형질막  $Ca^{2+}$  펌프 활성화, 근형질세포내  $Ca^{2+}$  펌프 활성화, inositol triphosphate ( $IP_3$ ) 수용체 억제,  $IP_3$  합성 억제, 근수축계의  $Ca^{2+}$  감수성 감소, protein kinase C (PKC) 활성화 감소 등을 들 수 있다 [3]. 본 연구에서는 먼저 fluoxetine의 혈관 이완에 cGMP 활성화에 의한 PKG 활성화로 인한  $Ca^{2+}$  통로 차단과 직접적인  $Ca^{2+}$  통로 차단과의 관계를 규명하고자 하였다.

혈관 내피가 존재하는 경우, 이완 인자인 NO 유리는 물론 평활근에서 NO는 cGMP를 증가시키기 때문에 혈관 이완 및 수축 기전 연구에서 혈관 내피의 유무, NOS 억제 및 활성화 상태는 매우 중요하다. 그러나 fluoxetine의 대동맥 이완 기전은 물론 cGMP와의 관련성에 대한 연구는 아직 없으며, 단지 혈관에는 여러 가지 아형의 5-HT 수용체가 존재하는데 기능적으로 내피에 존재하는 5-HT<sub>2A</sub> 수용체는 수축을 매개하는 수용체이며 5-HT<sub>2B</sub>, 5-HT<sub>7</sub> 수용체는 이완을 매개한다 [5, 8, 14, 27, 28, 35]. 흰쥐 회장과 식도에서 5-HT는 5-HT<sub>4</sub> 수용체를 경유하여 이완을 일으키는데 [16, 24, 29], 이 이완 효과가 L-NAME에 의하여 억제되지 않고 [29], adenosine 3',5'-cyclic monophosphate (cAMP)와 관련된다 [24]. 다른 종류의 3환계 항우울제인 protriptyline과 amitriptyline에 대한 연구에서도 혈관 이완이 혈관 내피 세포에 비의존적으로 일어나며 [9, 34], NOS 억제제인 L-NAME는 항우울제에 의한 혈관 이완에 영향을 미치지 않는다는 연구 보고 [34]에 불과하다. 이 연구에서 fluoxetine의 혈관 이완 효과 및 수축 억제 효과가 1차적으로 혈관 내피 세포와 관련이 있는지를 밝히기 위하여 내피 제거 및 NOS 억제제 존재하에서 실험하였다. Fluoxetine은 PE 수축 혈관 농도 의존적으로 이완시켰으며 이완 효과가 혈관 내피 제거는 물론 NOS 억제제인 L-NNA 및 L-NAME

의 전처치에 의하여 억제되었다. 역시 PE에 의한 혈관 수축 효과가 fluoxetine 전처치에 의하여 억제되었고 이 억제 효과가 내피 제거, L-NNA 및 L-NAME 전처치에 의하여 회복되었다. 또한 GC 억제제인 MB 및 ODQ에 의해서도 fluoxetine의 대동맥 이완 효과가 억제되었고 fluoxetine의 혈관 수축 억제 효과도 역시 GC 억제제 전처치에 의하여 회복되었다. 따라서 fluoxetine의 혈관 이완 또는 수축 억제 효과는 혈관 내피 의존성 NO-cGMP계와 관련될 수 있음을 의미한다. 또한 PE 수축 혈관에서 fluoxetine에 의한 혈관 이완 효과 및 PE 수축에 대한 fluoxetine의 억제 효과 역시 전위 의존적인  $Ca^{2+}$  통로 억제제인 nifedipine 및 verapamil에 의하여 억제되거나 회복되었다. 이상과 같은 결과에 의하면 fluoxetine의 혈관 이완 효과는 내피 의존성 NO-cGMP계 활성화에 의한 전위 의존적인  $Ca^{2+}$  통로 억제에 의한 결과로 추측된다.

어떠한 물질은 cGMP계를 경유하지 않고 직접적으로 혈관을 이완시킨다 [3]. 즉, 직접적으로  $Ca^{2+}$  통로를 차단하여 혈관을 이완시킬 수 있다. 그리고  $K^+$  통로 활성화에 의한 과분극 [1]으로 전압 의존성  $Ca^{2+}$  통로의 비활성으로 혈관을 이완시킨다. 반면 평활근 수축은 수용체 경유 및 전압 의존적  $Ca^{2+}$  통로의 활성화에 의한  $Ca^{2+}$  증가로 일어난다 [12, 26]. 고농도 KCl 뿐만 아니라 PE이나 NE도 상기 신호전달 경로를 경유하여 세포내  $Ca^{2+}$  저장소로부터  $Ca^{2+}$ 을 유리시켜 혈관을 수축시키고 수용체 활성화  $Ca^{2+}$  통로 개구에 의해서 혈관을 수축시킨다 [4]. 일반적으로 혈관 수축 및 이완에 대한 연구는 NE, PE 및 5-HT와 같은 수용체 효현제와 고농도 KCl에 의하여 혈관을 수축시켜 수행한다. 효현제에 의한 혈관 평활근 수축은 주로 수용체 자극 경로를 경유한  $Ca^{2+}$  통로의 개방에 의한 세포외  $Ca^{2+}$ 의 세포내로 유입, 세포내 저장소로부터  $Ca^{2+}$  유리 [25] 및 비선택적 양이온 통로를 경유한  $Ca^{2+}$  유입 [12, 18]에 의하며, 고농도 KCl에 의한 혈관 수축은 세포외  $Ca^{2+}$  제거나 L-type  $Ca^{2+}$  통로 차단제에 의하여 억제 [4]되기 때문에 KCl에 의한 수축은 전위 의존성  $Ca^{2+}$  통로를 경유한  $Ca^{2+}$  유입에 의존적임을 의미한다 [10]. 따라서 어떤 물질이 고농도 KCl에 의한 수축을 억제하거나 수축 혈관을 이완시키면 세포막 탈분극에 의한  $Ca^{2+}$  유입이 억제되었다고 할 수 있다. 3환계 항우울제가 전위 의존성 또는 수용체 활성화  $Ca^{2+}$  통로를 통한  $Ca^{2+}$  유입을 억제하여 혈관을 이완시킨다는 보고 [6, 34]도 있다. Fluoxetine은 골격근 동맥 [20]과 뇌동맥 [32]에서 이완을 일으키는데 이 효과는  $K^+$  통로나 내피 유래 이완 인자를 경유한 효과는 아니고  $Ca^{2+}$  통로를 억제하거나  $Ca^{2+}$ 에 의한 신호 전달체계를 억제함으로써 일어난다 [20]. 이 연구 결과에서 fluoxetine

은 고농도 KCl 수축 혈관에서 농도 의존적으로 이완시켰다. 이와 같은 결과는 fluoxetine에 의한 혈관 이완 효과는 직접적인 전위 의존적인  $Ca^{2+}$  통로 억제 또는  $K^+$  통로 개구에 의한 과분극의 결과일 수 있다. 그러나  $Ca^{2+}$ -활성  $K^+$  통로 억제제인 TBA에 의해서 fluoxetine의 혈관 이완 효과 및 PE에 대한 수축 억제 효과가 억제되지 않아  $Ca^{2+}$ -활성  $K^+$  통로 활성을 통한 과분극으로 전위 의존성  $Ca^{2+}$  통로를 통한  $Ca^{2+}$ 의 유입 억제에 의한 결과일 가능성은 없다. 또한 ATP-선택적  $K^+$  통로 억제제인 glibenclamide 역시 fluoxetine에 의한 혈관 이완 효과 및 PE에 대한 수축 억제 효과를 억제하지 못하여 fluoxetine의 혈관 이완 효과는  $K^+$  통로 활성화에 의한 결과로 볼 수 없다. 그러나 fluoxetine이 고농도 KCl에 의한 수축 혈관을 이완시킨 점과 fluoxetine이 PE 수축 혈관을 이완시키고, fluoxetine의 수축 억제 효과가 전위 의존적인  $Ca^{2+}$  통로 억제제인 nifedipine 및 verapamil에 의하여 억제되거나 회복되었음은 직접적으로 전위 의존적인  $Ca^{2+}$  통로를 억제하여 혈관을 이완시킬 수 있음을 의미한다. 역시 fluoxetine은 흰쥐 정맥에서 NE에 의한 수축을 억제하는데 이 억제 효과가 전위 의존적  $Ca^{2+}$  통로를 통한  $Ca^{2+}$  유입 억제에 의하고 [2], 동맥 평활근에서 세포내  $Ca^{2+}$ 과 긴장도를 감소시키는데 이는  $Ca^{2+}$  유입 억제에 의한다는 보고 [31]와 일치하였다. 추가적으로 고농도 KCl에 의한 수축 혈관에서는 fluoxetine의 혈관 이완 효과가 내피 제거, NOS 및 GC 억제제에 의하여 억제되지 않았다. 이는 내피 의존성 NO-cGMP계 활성화와 무관하게 직접적인  $Ca^{2+}$  통로 억제와 같은  $Ca^{2+}$  조절과 관련된 기전에 의하여 혈관을 이완시킨다는 증거이다. 그러나 PE 수축 혈관에서 fluoxetine의 혈관 이완 효과가 상기 억제제에 의하여 완벽하게 억제되지 않고 약 20% 정도의 이완이 일어났음은 억제제의 농도나 다른 기전에 의한 이완 효과로 사료된다.

결론적으로 흰쥐 대동맥에서 fluoxetine의 혈관 이완은 내피 의존성 NO-cGMP계 활성화에 의한 전위 의존적인  $Ca^{2+}$  통로 억제 또는 직접적인 전위 의존적인  $Ca^{2+}$  통로 억제에 의하여 일어날 수 있을 것으로 추측된다.

## 결론

흰쥐 흉대동맥에서 선택적 serotonin 재흡수 억제제인 fluoxetine의 이완 효과를 실험하였다. Fluoxetine은 PE 또는 고농도 KCl에 의한 수축 혈관에서 농도 의존적으로 이완을 일으켰다. 내피가 존재하는 PE 수축 혈관에서 이와 같은 fluoxetine의 농도 의존적 혈관 이완 효과가 혈관 내피 제거와 NOS 억제제인 L-NNA와 L-NAME, GC 억제제인 MB와 ODQ,  $Ca^{2+}$  통로 차단제인 nifedipine

과 verapamil 전치치에 의하여 억제되었다. 그러나 K<sup>+</sup> 통로 차단제인 TBA과 glibenclamide 전치치에 의해서는 억제되지 않았다. 내피가 존재하는 KCl 수축 혈관에서도 fluoxetine의 농도 의존적 혈관 이완 효과가 혈관 내피 제거와 L-NNA 및 MB 전치치에 의하여 억제되지 않았다. Fluoxetine은 내피가 존재하는 혈관에서 PE에 의한 혈관 수축 반응을 억제하였으며, 이 억제 효과가 내피 제거, L-NNA, L-NAME, MB, ODQ, nifedipine 및 verapamil 전치치에 의하여 회복되었다. 그러나 이 수축 억제 효과가 TBA와 glibenclamide 전치치에 의해서는 회복되지 않았다.

이와 같은 결과에 의하면 흰쥐 대동맥에서 fluoxetine의 혈관 이완 효과는 내피 의존성 NO-cGMP 경로와 관련된 세포내 Ca<sup>2+</sup>에 의하여 조절될 수 있고, 또한 전위 의존적인 Ca<sup>2+</sup> 통로 억제와 관련될 수 있다.

### 참고문헌

1. **Brayden, J. E.** Potassium channels in vascular smooth muscle. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* 1996, **23**, 1069-1076.
2. **Busch, L., Wald, M., Sterin-Borda, L. and Borda, E.** Fluoxetine modulates norepinephrine contractile effect on rat vas deferens. *Pharmacol. Res.* 2000, **41**, 39-45.
3. **Carvajal, J. A., Germain, A. M., Huidobro-Toro, J. P. and Weiner, C. P.** Molecular mechanism of cGMP-mediated smooth muscle relaxation. *J. Cell Physiol.* 2000, **184**, 409-420.
4. **Cauvin, C., Loutzenhisser, R. and van Breemen, C.** Mechanism of calcium-antagonist induced vasodilation. *Annu. Rev. Pharmacol.* 1983, **23**, 373-396.
5. **Ellis, E. S., Byrne, C., Murphy, O. E., Tilford, N. S. and Baxter, G. S.** Mediation by 5-hydroxytryptamine 2B receptors of endothelium-dependent relaxation in rat jugular vein. *Br. J. Pharmacol.* 1995, **114**, 400-404.
6. **Fernandez del Pozo, B., Perez-Vizcaino, F., Fernandez, C., Zaragoza, F. and Tamargo, J.** Effects of several class I antiarrhythmic drugs on isolated rat aortic vascular smooth muscle. *Gen. Pharmacol.* 1997, **29**, 539-543.
7. **Garcia-Colunga, J., Awad, J. N. and Miledi, R.** Blockage of muscle and neuronal nicotinic acetylcholine receptors by fluoxetine (Prozac). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1997, **94**, 2041-2044.
8. **Glusa, E. and Pertz, H. H.** Further evidence that 5-HT-induced relaxation of pig pulmonary artery is mediated by endothelial 5-HT(2B) receptors. *Br. J. Pharmacol.* 2000, **130**, 692-698.
9. **Huang, Y.** Inhibitory effect of noradrenalin uptake inhibitors on contractions of rat aortic smooth muscle. *Br. J. Pharmacol.* 1996, **117**, 533-539.
10. **Hudgins, P. M. and Weiss, G. B.** Differential effects of calcium removal upon vascular smooth muscle contraction induced by norepinephrine, histamine and potassium. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1968, **159**, 91-97.
11. **Jagadesh, S. R. and Subhash, M. N.** Effect of antidepressants on intracellular Ca<sup>2+</sup> mobilization in human frontal cortex. *Biol. Psychiatry.* 1998, **44**, 617-621.
12. **Karaki, H., Ozaki, H., Hori, M., Mitsui-Saito, M., Amano, K., Harada, K., Miyamoto, S., Nakazawa, H., Won, K. J. and Sato, K.** Calcium movements, distribution, and functions in smooth muscle. *Pharmacol. Rev.* 1997, **49**, 157-230.
13. **Lavoie, P. A., Beauchamp, G. and Elie, R.** Atypical antidepressants inhibit depolarization-induced calcium uptake in rat hippocampus synaptosomes. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 1997, **75**, 983-987.
14. **Leung, E., Walsh, L. K., Pulido-Rios, M. T. and Eglon, R. M.** Characterization of putative 5-HT<sub>7</sub> receptors mediating direct relaxation in Cynomolgus monkey isolated jugular vein. *Br. J. Pharmacol.* 1996, **117**, 926-930.
15. **Li, Q., Brownfield, M. S., Battaglia, G., Cabrera, T. M., Levy, A. D., Rittenhouse, P. A. and van de Kar, L. D.** Long-term treatment with the antidepressants fluoxetine and desipramine potentiates endocrine responses to the serotonin agonists 6-chloro-2-[1-piperazinyl]-pyrazine (MK-212) and (+)-1-(2,5-dimethoxy-4-iodophenyl)-2-aminopropane HCl (DOI). *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1993, **266**, 836-844.
16. **Lucchelli, A., Santagostino-Barbone, M. G., Masoero, E., Baiardi, P. and Tonini, M.** Influence of fluoxetine and litoxetine on 5-HT<sub>4</sub> receptor-mediated relaxation in the rat isolated oesophagus. *Fundam. Clin. Pharmacol.* 1999, **13**, 330-336.
17. **McLean, P. G. and Coupar, I. M.** Characterisation of a postjunctional 5-HT<sub>7</sub>-like and a prejunctional 5-HT<sub>3</sub> receptor mediating contraction of rat isolated jejunum. *Eur. J. Pharmacol.* 1996, **312**, 215-225.
18. **Nakajima, T., Hazama, H., Hamada, E., Wu, S. N., Igarashi, K., Yamashita, T., Seyama, Y., Omata, M. and Kurachi, Y.** Endothelin-1 and vasopressin activate

- Ca(2+)-permeable non-selective cation channels in aortic smooth muscle cells: mechanism of receptor-mediated Ca<sup>2+</sup> influx. *J. Mol. Cell Cardiol.* 1996, **28**, 707-722.
19. **Ni, Y. G. and Miledi, R.** Blockage of 5-HT<sub>2C</sub> serotonin receptors by fluoxetine (Prozac). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1997, **94**, 2036-2040.
  20. **Pacher, P., Ungvari, Z., Kecskemeti, V. and Koller, A.** Serotonin reuptake inhibitor, fluoxetine, dilates isolated skeletal muscle arterioles. Possible role of altered Ca<sup>2+</sup> sensitivity. *Br. J. Pharmacol.* 1999, **127**, 740-746.
  21. **Pacher, P., Ungvari, Z., Kecskemeti, V., Friedmann, T. and Furst, S.** Serotonin reuptake inhibitors fluoxetine and citalopram relax intestinal smooth muscle. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 2001, **79**, 580-584.
  22. **Pancrazio, J. J., Kamatchi, G. L., Roscoe, A. K. and Lynch, C. 3rd.** Inhibition of neuronal Na<sup>+</sup> channels by antidepressant drugs. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1998, **284**, 208-214.
  23. **Pitt, B. R., Weng, W., Steve, A. R., Blakely, R. D., Reynolds, I. and Davies, P.** Serotonin increases DNA synthesis in rat proximal and distal pulmonary vascular smooth muscle cells in culture. *Am. J. Physiol.* 1994, **266**, L178-186.
  24. **Reeves, J. J., Bunce, K. T. and Humphrey, P. P.** Investigation into the 5-hydroxytryptamine receptor mediating smooth muscle relaxation in the rat oesophagus. *Br. J. Pharmacol.* 1991, **103**, 1067-1072.
  25. **Somlyo, A. P. and Himpens, B.** Cell calcium and its regulation in smooth muscle. *FASEB J.* 1989, **3**, 2266-2276.
  26. **Taggart, M. J., Menice, C. B., Morgan, K. G. and Wray, S.** Effect of metabolic inhibition on intracellular Ca<sup>2+</sup>, phosphorylation of myosin regulatory light chain and force in rat smooth muscle. *J. Physiol.* 1997, **499**, 485-496.
  27. **Terron, J. A.** Antagonism of the relaxant 5-HT receptor in the dog basilar artery by the high-affinity 5-HT<sub>7</sub> receptor ligand, LY215840. *Proc. West Pharmacol. Soc.* 1998, **41**, 129-130.
  28. **Terron, J. A. and Falcon-Neri, A.** Pharmacological evidence for the 5-HT<sub>7</sub> receptor mediating smooth muscle relaxation in canine cerebral arteries. *Br. J. Pharmacol.* 1999, **127**, 609-616.
  29. **Tuladhar, B. R., Costall, B. and Naylor, R. J.** Pharmacological characterization of the 5-hydroxytryptamine receptor mediating relaxation in the rat isolated ileum. *Br. J. Pharmacol.* 1996, **119**, 303-310.
  30. **Tytgat, J., Maertens, C. and Daenens, P.** Effect of fluoxetine on a neuronal voltage-dependent potassium channel. *Br. J. Pharmacol.* 1997, **122**, 1417-1424.
  31. **Ungvari, Z., Pacher, P. and Koller, A.** Serotonin reuptake inhibitor fluoxetine decreases arteriolar myogenic tone by reducing smooth muscle [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 2000, **35**, 849-854.
  32. **Ungvari, Z., Pacher, P., Kecskemeti, V. and Koller, A.** Fluoxetine dilates isolated small cerebral arteries of rats and attenuates constrictions to serotonin, norepinephrine, and a voltage-dependent Ca(2+) channel opener. *Stroke.* 1999, **30**, 1949-1954.
  33. **Velasco, A., Alamo, C., Hervas, J. and Carvajal, A.** Effects of fluoxetine hydrochloride and fluvoxamine maleate on different preparations of isolated guinea pig and rat organ tissues. *Gen. Pharmacol.* 1997, **28**, 509-512.
  34. **Vila, J. M., Medina, P., Segarra, G., Lluch, P., Pallardo, F., Flor, B. and Lluch, S.** Relaxant effects of antidepressants on human isolated mesenteric arteries. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 1999, **48**, 223-229.
  35. **Villazon, M., Padin, J. F., Cadavid, M. I., Enguix, M. J., Tristan, H., Orallo, F. and Loza, M. I.** Functional characterization of serotonin receptors in rat isolated aorta. *Biol. Pharm. Bull.* 2002, **25**, 584-590.