

## 혈관 평활근에 대한 안지오텐신 II의 작용기전

### Action of Angiotensin II on the Vascular Smooth Muscle in Isolated Rabbit Aorta

서울대학교 의과대학 의과학교실

(지도교수: 남기용)

홍 성 화\*

#### 서 론

강력한 평활근 수축제인 안지오텐신 II (angiotensin II; A. II)의 혈관축소작용은 혈관 평활근에 대한 직접작용과, 혈관조직내의 교감신경 말단에 대한 간접작용으로 대별할 수 있고 이들 각 작용을 뒷받침해 주는 많은 단편적인 실험사실들이 알려져 있다.

즉 A. II가 혈관 평활근에 직접 작용하여 수축을 일으킨다는 증거로는 적출혈관에서 A. II에 대한 수축반응이  $\alpha$  혹은  $\beta$ -차단제로 변하지 않으며(Palic and Le Morvan, 1971; Voth et al., 1971), reserpine전처치료교감신경 말단의 노에피네프린을 고갈시킨 경우에도 수축을 일으키는 사실이다(Sakurai and Hashimoto, 1965). 그외에도 각종 흥분전달물질 억제제에 영향을 받지 않는 점 등이다(Blair et al., 1968).

A. II가 교감신경을 통하여 간접적인 방법으로 혈관축소작용을 유발시킨다는 여러가지 실험성적들이 있다. 즉 A. II는 교감신경을 자극하거나 노에피네프린 유리를 축진시키는 약물이나 반사작용의 크기를 강화시키고(McCubbin and Page, 1963; Benelli et al., 1964), 적출혈관을 이용한 실험에 의하면 A. II가 교감신경 말단에서 노에피네프린 유리를 축진시켜 수축을 일으킨다는 증거도 있다(Distler et al., 1965; Zimmerman, 1978). 그러나 아직도 그 자세한 작용기전에 관하여는 모로는 바가 많다.

혈관을 포함한 평활근 수축에도 다른 꿀결근이나 심장근에서와 같이  $Ca^{2+}$ 이 필요한데, 두가지 과정 즉 흥분-수축연결(excitation-contraction coupling, Sandow, 1952)과 활동전압 생성에 필요하다(Bohr, 1964; Somlyo

and Somlyo, 1970; Ruegg, 1971).

평활근의 수축단백질을 활성화시키는  $Ca^{2+}$ 은 두가지 중요한 공급원에서 나오게 되는데 첫째는 세포막 외면에 느슨히 붙어있는 것을 포함한 세포외  $Ca^{2+}$ 이고 둘째는 세포막 내면에 붙은 것과 근장그물(sarcoplasmic reticulum), 미토콘드리아 등에 있는 세포내  $Ca^{2+}$ 이 중요한 공급원으로 작용한다(Prosser, 1974; Kuriyama, 1977). 혈관 평활근을 수축시키는 과정은 두가지의 서로 다른 방법이 있는데 첫째는 세포막에 생긴 활동전압으로 수축에 필요한  $Ca^{2+}$  (activator  $Ca^{2+}$ )이 근장내로 유리되어 수축이 일어나는 과정(electrical activation; EC Coupling)과 둘째는 활동전압이 없이 수축제(norepinephrine, angiotensin II, histamine, vasopressin 등 agonists)에 의하여 수축이 일어나는 방법이 있다(non-electrical activation; pharmaco-mechanical coupling) (Haeusler, 1972; Mekata and Niu, 1972; Bohr, 1973; Fleckenstein, 1977).

본 실험은 A. II의 혈관 평활근에 대한 수축기전을 밝혀 볼 목적으로 여러가지 조건에서 혈관수축에 동원되는  $Ca^{2+}$ -공급원을 분석하였고, 막전압과 수축작용 사이의 관계와 노에피네프린에 의한 수축작용과를 비교관찰하여 A. II의 작용기전을 구명하고자 하였다.

#### 실험방법

체중 1.5~2.5kg되는 토끼를 암수 구별없이 실험동물로 하여 흥분대동맥을 실험재료로 사용하였다. 토끼의 혈액으로 초래될 혈중 아드레날린 농도를 최소한도로 줄이기 위하여 후두부를 강타한 후 즉시 내경동맥을 절단하여 실혈시켰다. 개흉하여 대동맥을 적출한 뒤 실온에서 100%  $O_2$ 로 포화된 tris-완충 Tyrode 용액(NaCl 158, KCl 4.0, CaCl<sub>2</sub> 2.0, MgCl<sub>2</sub> 1.0,

\* 경희대학교 의과대학 의과학교실

Glucose 5.5, Tris 10mM, pH 7.30~7.35)이 들어 있는 준비용기 내에서 혈관주위 조직을 깨끗이 벗어한 뒤 혈관절제용 유리 끝에 한쪽 끝을 고정시키고 돌리면서 45° 방향으로 잘라 나선형의 긴 절편을 만들었다(helical strip). 길이 10~12mm, 나비 1~2mm되게 더듬어 근육고정기에 양쪽을 이완된 상태로 고정한 뒤 실온에서 1시간 가량 충분한 양의 100% O<sub>2</sub>를 공급하면서 회복시켰다.

그린 뒤 35°C에서 3% CO<sub>2</sub>-97% O<sub>2</sub>의 혼합기체로 평형을 이룬 HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>-완충 Tyrode용액(NaCl 148, KCl 4.0, CaCl<sub>2</sub> 2.0, MgCl<sub>2</sub> 1.0, NaHCO<sub>3</sub> 13, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.42, Glucose 5.5mM, pH 7.30~7.35)으로 채워놓은 실험용기(용량 50ml)에 옮겨, 근육고정기와 근수축변환기(Grass FT-03)를 연결시키고 기록기(DeviceEx)에 연결하여 등장성 수축(isometric contraction)곡선을 기록할 수 있도록 장치하였다. 실험용기 내에서 실험이 시작되기 전에 1시간 이상 충분히 이완된 상태로 두었으며 20분마다 새로운 용액으로 갈아주면서 회복을 축진시켰다.

피동장력(passive tension)은 0.5~1.0g을 걸어주어 최대장력을 발생할 수 있도록 하였다(Furchtgott and Bhadrakom, 1953).

K-경축(K-contracture)용으로는 정상 Tyrode용액내의 Na<sup>+</sup>을 K<sup>+</sup>높인만큼 줄여서 정상적인 등장성 용액으로 만들어 사용하였고, La<sup>3+</sup>실험에는 35°C에서 100% O<sub>2</sub>로 평형시킨 Tris-완충 Tyrode를 사용하여 HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>와의 결합으로 생기는 침전반응을 피하였다.

실험에 사용된 약물은 다음과 같다. Angiotensin II (Hypertensin, CIBA); Norepinephrine (Arterenol, Hoechs+AG); Verapamil (Isoptin, Knoll AG); Phen-tolamine (Regitin, CIBA)

## 실험성적

토끼 혈부대동맥의 나선형 절편에서 A. II에 대한 수축반응을 그림 1, 2에 보인다. 10<sup>-10</sup>M A. II에서는 거의 수축반응이 없으나 농도증가에 따라서 수축크기도 증가하였다.

10<sup>-7</sup>M A. II에서의 수축크기를 최대치(100%)로 하고 각 농도에서의 크기를 그림 2에 표시하였다. 최대치의 50%에 이르는 농도는 3×10<sup>-9</sup>M이었고, 낮은 농도에서는 상당 시간 지속성 수축을 유지하였으나, 높은 농도에서는 최고치에 도달하였다가 유지못하고 서서히 감소하는 현상을 보였다. 수축은 A. II에 평활근이 노출되는 즉시 일어났으며 정상 Tyrode용액으로 바꿔주면 서서히 이완되었다. 지속성 수축을 유지하면서 동시에 최대 수축을 일으키는 농도는 10<sup>-8</sup>M A. II에 있었으므로 이 농도에서 여러가지 조건을 가하여 변화를 관찰하였다.

계속적으로 A. II에 노출시킬 경우, 조직에 따라서는 점차로 수축의 크기가 작아지는 tachyphylaxis현상이 있는데, 만일 토끼 대동맥에도 이러한 현상이 있다면, 나타난 수축반응의 변화가 tachyphylaxis에 의한 것인지 혹은 부여조건에 따른 것인지를 분간할 수 없을 것으로 수축기전을 규명하기 전에 이에 대한 사전 점검이 필요시 된다. 그림 3에 토끼 대동맥에는 A. II에 tachyphylaxis가 없음을 보이고 있다. 즉 10<sup>-8</sup>M A. II에 6분간 노출시켜 최대값을 확인한 후 8분마다 정상 Tyrode용액으로 3번 바꿔주면 완전히 이완되어 정상 상태로 돌아오는데 여기에 다시 10<sup>-8</sup>M A. II를 재노출시키면 전혀 tachyphylaxis가 없이 똑같은 크기의 수축크기를 나타내고 있다.

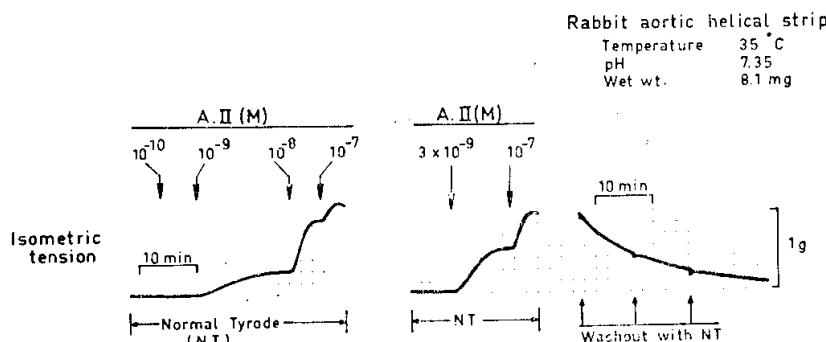


Fig. 1. Dose-dependent contractile responses to angiotensin II. A. II was administered cumulatively to bathing Tyrode solution. Wet weight of helical strip was 8.1 mg.

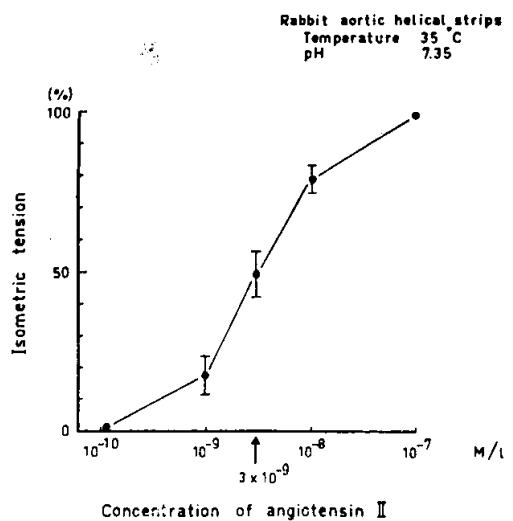


Fig. 2. Dose-dependency of A. II-induced contraction in rabbit aorta. Developed tension was expressed as a percentage of maximum response induced at the concentration of  $10^{-7}$ M A. II. Each point shows the mean  $\pm$  S.E.M. for pooled data from 15 preparations.

막전압과 A. II의 수축과의 관계를 보기 위하여 K-Tyrode용액으로 K-경축을 일으킨데에 A. II를 가하여 나타난 결과를 보이는 것이 그림 4이다.  $K^+$  30mM과 100mM로 각각 K-경축을 일으켜 지속성 수축을 유지하는 상태에서  $10^{-8}$ M A. II를 투여하면 수축의 크기에 차이가 있으나 모두 뚜렷한 수축반응을 나타내고 있다. 이것은 A. II의 수축반응은 막전압과는 거의 무관하게 일어나고 있음을 시사한다.

A. II가 세포의  $Ca^{2+}$ 의 유입을 촉진시켜 수축을 일으키는지를 알아보기 위하여  $Ca^{2+}$ 의 유입(influx)을 선택적으로 막는 verapamil (Kohlhardt, 1972)을 정상 Tyrode용액 내에 전자치한 뒤 A. II의 반응을 관찰한 것을 그림 5에 보인다.  $K^+$ -경축이  $2mg/l$  verapamil로 완전히 차단되므로 이 정도의 농도면 정상 Tyrode용액 ( $Ca^{2+}$ , 2mM)에서 세포내로의  $Ca^{2+}$ 유입을 거의 완전히 차단되었다고 볼 수 있다. 그러므로  $2mg/l$  verapamil로 전자치하고 10분이 지난후에  $10^{-8}M$  A. II를 투여하면 여전히 전형적인 수축반응을 나타내고 있다. 이러한 사실은 A. II가 수축에 필요한  $Ca^{2+}$ 을 세포막이나 세포내 저장고로부터 유리시키는 작용을 가지고 있음을 나타내고 있다. 이와 같은 작용이  $\alpha$ -차단제 존재 하에서도 영향을 받지 않는 점으로 보아 노에피네프린의 수축기전과는 다른 기전에 의한 것임을 그림 6에 보인다.  $K^+$ -경축( $K^+$ , 100mM)을 일으킨데에 regitine(2mg/l)과 verapamil(2mg/l) 전자치로 완전히 지속성 수축상태가 억압되어 정상수준으로 완전 이완된 상태에  $10^{-8}M$  A. II를 투여한 결과 여전히 강력한 수축반응을 보이고 있으며,  $Ca^{2+}$ 추가 투여로 수축크기가 변함을 나타내고 있다.

세포의  $Ca^{2+}$ 농도의 변화가 A. II 수축력에 영향을 미치고 있으므로, 세포의  $Ca^{2+}$ 농도를 변화시키면서 수축크기를 본 것이 그림 7,8에 나타나 있다. Ca-free Tyrode용액에서도  $10^{-8}M$  A. II에 의하여 최대치의 26  $\pm$  5.5%(mean  $\pm$  S.E.: 이하 같음) 수축크기를 보이나 지속적으로 수축상태를 유지못하고 점차 감소하고 있다. 여기에 추가로  $Ca^{2+}$ 을 투여하면  $Ca^{2+}$  농도증가에 따

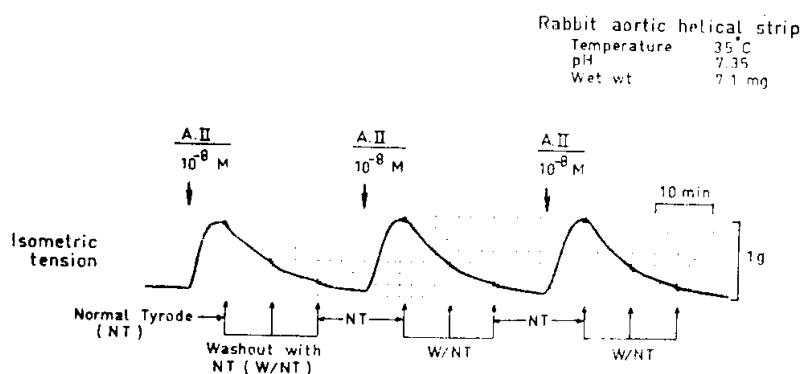
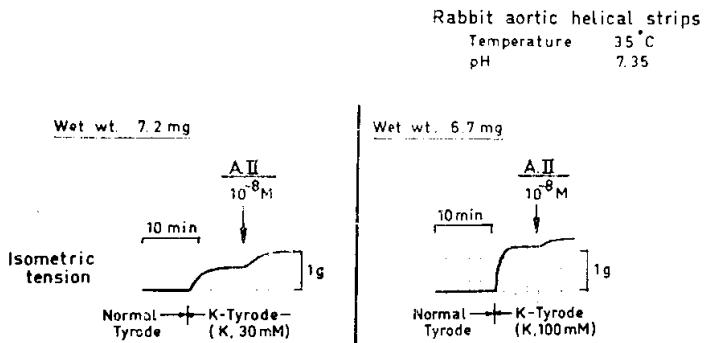
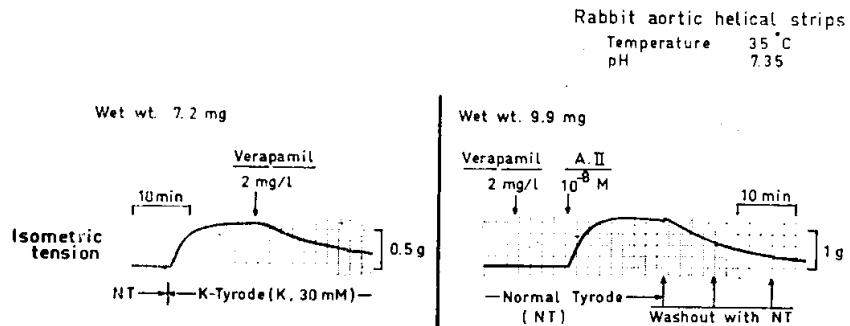


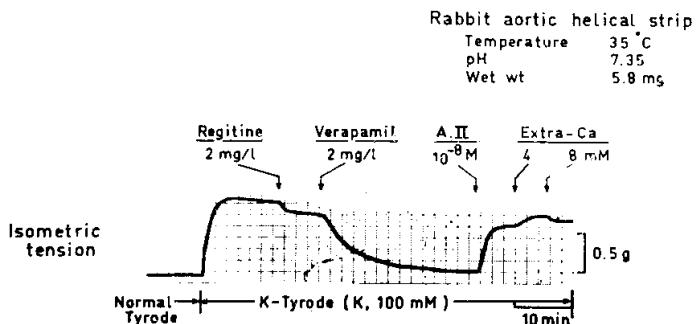
Fig. 3. Perfect reproducibility of contractile responses to A. II (no tachyphylaxis). Amplitude of A. II-induced contraction was not altered, when the strip was exposed repeatedly to A. II for 6 minutes every 30 minutes. Wet weight was 7.1 mg.



**Fig. 4.** A. II-induced contractions on K-contracture. A. II developed an additional contraction even on the contracture induced by K-depolarization.



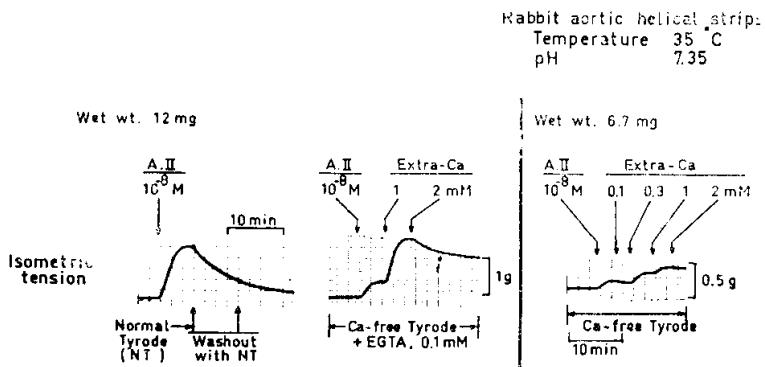
**Fig. 5.** Contractile responses to A. II, even in verapamil-containing medium. It is well known that verapamil is a Ca-antagonist to block transmembrane Ca influx.



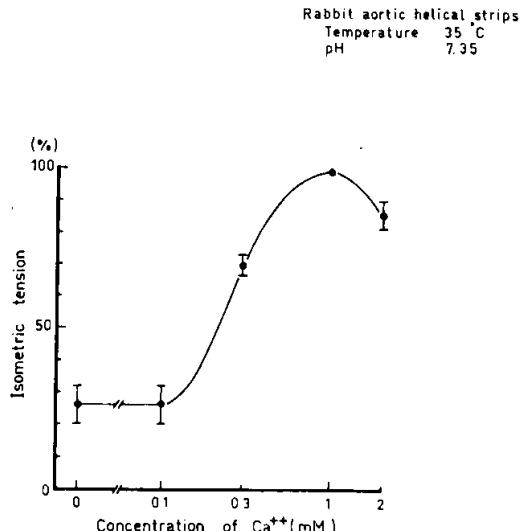
**Fig. 6.** Contractile responses to A. II, unaffected by verapamil and regitine ( $\alpha$ -blocker). Wet weight of helical strip was 5.8 mg.

라 수축크기도 증가하여 1mM에서 최고치에 도달하였다가 2mM에서는 오히려 감소하고 있다. 이러한 실험결

과는 A. II가 수축초기에는 세포내 혹은 세포막으로부터  $Ca^{2+}$ 을 유리시켜 어느 정도 수축반응을 유발시키나



**Fig. 7.** Effect of external  $\text{Ca}^{2+}$  on A. II-induced contractions. Even in  $\text{Ca}^{2+}$ -free Tyrode solution, A. II induced contraction, but it was not sustained and decreased gradually.

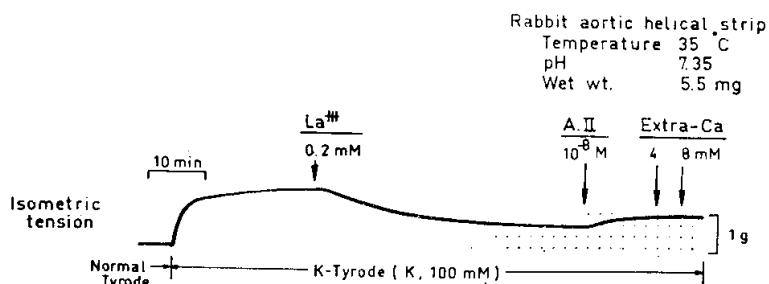


**Fig. 8.** Effect of external  $\text{Ca}^{2+}$  on A. II-induced contractions in aorta. The concentration of A. II was  $10^{-8}\text{M}$ . The amplitude of contraction increased dose-dependently, but above 2 mM  $\text{Ca}^{2+}$ , it decreased.

세포의  $\text{Ca}^{2+}$ -유입이 뒤따라야 지속적이고 큰 수축을 일으킬 수 있음을 암시하고 있다.

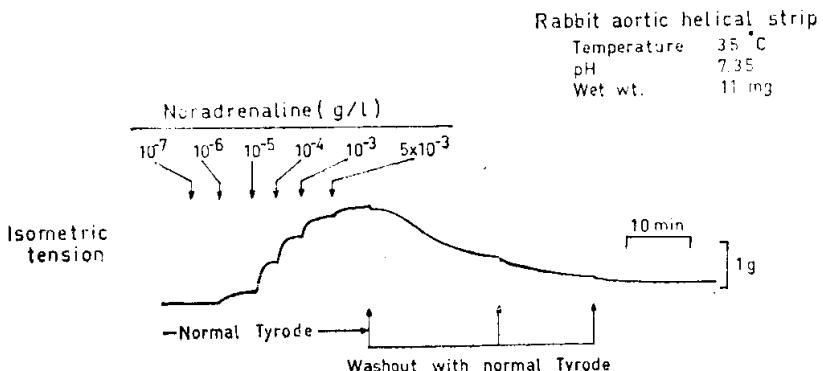
$\text{La}^{3+}$ 은 평활근의 세포막에만 붙고 세포내로는 들어 가지 않으며(Langer, 1976), 세포막을 통한  $\text{Ca}^{2+}$  출입을 모두 막는 것으로 알려져 있다(van Breeman, 1969).  $\text{La}^{3+}$ 의 이러한 특성을 이용하여 A. II 수축반응에 동원되는  $\text{Ca}^{2+}$ -공급원을 좀 더 세분하여 밝혀볼 목적으로  $\text{La}^{3+}(0.2\text{mM})$ 존재하에서의 A. II의 수축 반응의 변화를 본 것이 그림 9이다.  $\text{K}^{+}$ -경축( $\text{K}^{+}, 100\text{mM}$ )이 0.2 mM  $\text{La}^{3+}$ 투여에 의하여 서서히 억제되어 1시간 정도 지나서 일정하게 된 뒤  $10^{-8}\text{M}$  A. II를 투여하면 작지만 뚜렷한 수축반응이 나타나고  $\text{Ca}^{2+}$  추가 투여로도 수축크기에는 변화가 보이지 않는다.

이것은 A. II에 의하여 세포내에서 유리된  $\text{Ca}^{2+}$ 이 유출이 잘 안되므로 지속적 수축이 유지되고 있으며, 세포막에 붙어  $\text{Ca}^{2+}$  출입을 막고 있는  $\text{La}^{3+}$  때문에  $\text{Ca}^{2+}$  추가 투여에 의하여도 수축크기의 변화는 없는 것으로 해석된다.

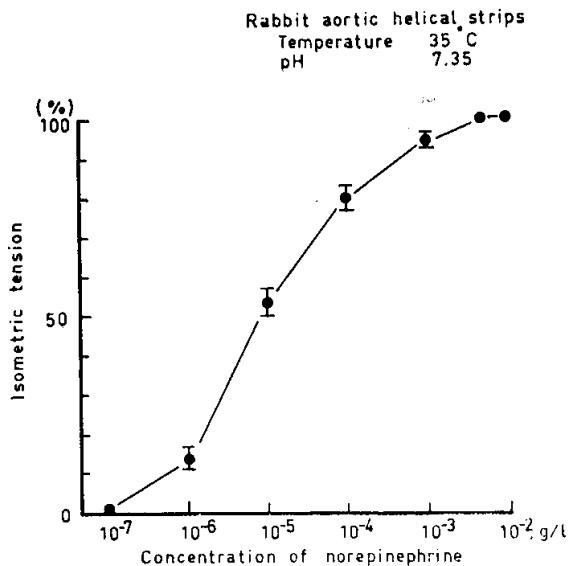


**Fig. 9.** A. II-induced contraction in the presence of lanthanum ( $\text{La}^{3+}$ ). It is known for  $\text{La}^{3+}$  to block both transmembrane  $\text{Ca}^{2+}$  influx and efflux. Wet weight of helical strip was 5.5mg.

—홍성화: 혈관 평활근에 대한 안지오텐신 II의 기전—



**Fig. 10.** Dose-dependent sustained contractions induced by norepinephrine. Norepinephrine was added cumulatively to the bathing normal Tyrode solution. Maximum contraction was developed at the concentration of 5mg/l norepinephrine.

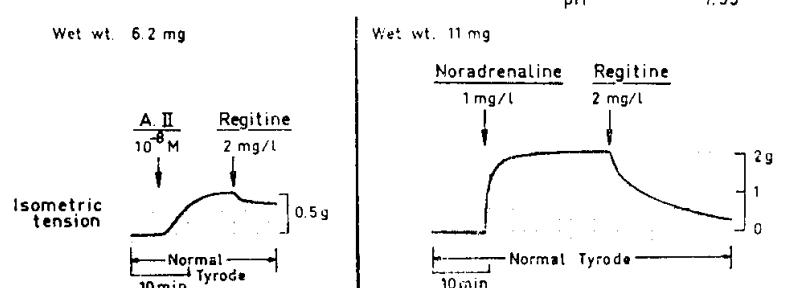


**Fig. 11.** Cumulative dose-response curve to exogenous norepinephrine in rabbit aorta. Developed isometric tension was expressed as a percentage of the maximal contraction to 5mg/l norepinephrine. Data were shown as means  $\pm$  S.E.M. for 9 preparations.

노에피네프린으로 생기는 수축도 지속성 수축상태를 나타내는데 농도증가에 따라 장력발생이 커지며 정상 Tyrode용액으로 씻어내도 한번에는 완전회복이 안되 있고 몇번 씻어내야 정상수준으로 돌아왔다. 이러한 현상을 그림 10, 11에 보인다. 수축은  $10^{-7} \sim 10^{-6}$  g/l에서 시작되었고  $10^{-3}$  g/l(1mg/l)에서 최대치(10mg/l에서 발생되는 장력)의  $94 \pm 0.9$  (%)에 도달하였고, 최대치의 50%에 도달하는 농도는  $10^{-5}$  g/l 전후에 있었다.

A. II의 수축반응중 교감신경 말단에 작용하여 노에피네프린 유리를 죽진하는 기전이 어느 정도나 기여하는지를 보이는 것이 그림 12이다.

$\alpha$ -차단제 (regitine)가 2mg/l이면 외부에서 넣어준 1mg/l 노에피네프린의 수축반응도 완전 억제할 수 있으므로 충분한 농도로 생각된다.  $10^{-8}$  M A. II로 지속성 수축을 일으킨 뒤 2mg/l의  $\alpha$ -차단제를 투여한 결과 수축의 크기가 30%정도 감소되는 것으로 보아 확실히 교감신경을 통한 간접적인 수축기전도 A. II의 혈관축소 작용에 상당히 기여하고 있음을 나타내고 있다.



**Fig. 12.** Partial inhibition of A. II-induced contraction by  $\alpha$ -blocker in rabbit aorta. The sustained contraction induced by  $10^{-8}$  M A. II was suppressed significantly by the addition of  $\alpha$ -receptor blocker.

## 고 졸

혈관 평활근은 세포막에 생긴 활동전압으로 수축이 일어나는 홍분·수축 연결(excitation-contraction coupling, EC-coupling, electrical activation) 과정을 통하여 수축하거나 혹은 활동전압 없이도 약물에 의하여 근장내 활성  $\text{Ca}^+$  (activator  $\text{Ca}^+$ ) 농도가 증가되어 수축단백질이 활성화되는 방법(pharmacomechanical coupling, nonelectrical activation)으로 수축을 일으킬 수 있다(Bohr, 1973). 홍분·수축 연결에 의하여 수축을 일으키는 대표적인 혈관으로는 문맥-장간막 정맥들을 예로 들 수 있는 바, 이들 평활근은 자발적 활동전압을 발생시켜 근장내로 활성  $\text{Ca}^+$ 을 운반하여 수축을 일으킨다(Holman et al., 1968; Ito and Kuriyama, 1971). 이에 대하여 대부분의 큰 동맥계통의 혈관에서는 자발적 수축이 보이지 않고 이에 따라 물론 활동전압도 볼 수 없다(Somlyo and Somlyo, 1968).

동·장성 K-Tyrode용액으로 혈관 평활근을 완전 탈분극시킨 상태에 노에피네프린(norepinephrine, NE)을 투여하면 수축을 일으킨다. 이러한 사실은 NE가 막전압의 변화 없이도 수축을 일으킬 수 있음을 입증하는 현상이다(Su et al., 1964; Mekata and Niu, 1972; Mekata, 1974; Casteels et al., 1977). 본 실험에서도 동·장성의 100mM  $\text{K}^+$ 으로 지속적 수축을 유지하는 K-경축을 일으킨 상태 하에서  $10^{-8}\text{M}$  A. II를 투여하여 뚜렷한 수축반응을 일으키는 것으로 보아, A. II도 토끼 대동맥에서 막전압의 변화 없이도 근장내로 활성  $\text{Ca}^+$ 을 동원시키는 작용을 가지고 있음을 알 수 있다. 생체내에서 A. II의 혈관축소 작용이 모두 이러한 활동전압이나 막전압의 변화 없이 일어나는지 혹은 활동전압이 선행되는 홍분·수축 연결에 의하여 유발되는지 또는 이들이 섞여 일어나는지는 이것만으로는 알 수 없는 일이다.

혈관 평활근에 직접 미세전극을 삽입하고 NE 투여 효과를 본 실험들에 의하면 활동전압 발생이 없다는 데에는 일치된 실험성적을 보이고 있으나 막전압 변화 유무에 대하여는 서로 상반된 실험결과가 있다. 즉 토끼 폐동맥 절편에 미세전극을 꽂고  $10^{-6}\text{M}$  NE를 투여하면 막전압이 평균 15mV 정도 감소하면서 수축이 일어난다는 실험보고가 있다(Haeusler, 1972; Haeusler, 1978). 이에 반하여 토끼 총경동맥 절편을 이용한 실험에 따르면 저농도의 NE로 막전압의 변화 없이 수축이 일어났으며(Mekata and Niu, 1972), 토끼 대동맥

에서도 같은 실험성적을 보고하였다(Mekata, 1974). 토끼 귀의 동맥절편을 이용한 실험에 의하면 NE  $10^{-9}$  ~ $10^{-8}\text{M}$  농도 범위에서는 막전압의 변화는 전혀 없었고 장력발생만이 NE농도 증가에 따라 커졌다. 그러나 히스타민은  $10^{-8}$ ~ $10^{-7}\text{M}$ 에서는 막전압의 변화를 일으키지 않았으나  $10^{-7}\text{M}$  이상에서는 농도 증가에 따라 탈분극의 정도도 커졌다(Droogmans et al., 1977).

이와같이 현재로서는 막전압 변화 유무에 대하여 연구자와 혈관 종류에 따라 차이가 있으나 NE가 활동전압을 유발시키지 않는다는 데에는 실험결과가 일치되고 있다. 그러므로 NE와 같이 생체내 합성물인 A. II도 활동전압의 발생 없이 활성  $\text{Ca}^+$ 을 세포내로 동원시키 수축을 일으킨다고 보아야 될 것이다.

근육수축에는 반드시  $\text{Ca}^+$ 이 필요한데 혈관 평활근 수축에도 어느 경우에나  $\text{Ca}^+$ 이 필요하고 또한 매우 낮은  $\text{Ca}^+$  농도에서 수축이 일어나므로 활성  $\text{Ca}^+$ 의 공급원과  $\text{Ca}^+$  유리기전을 밝히는 것이 수축기전 연구에 중요한 한 단계가 될 것이다. 수축단백질을 활성화시키는 활성  $\text{Ca}^+$ 의 공급원은 2종류가 있다. 즉 세포막을 중심으로하여 세포막 외면에 느슨히 붙어있는 것과 근장그물, 미토콘드리아 등에 저장되어 있는 세포내  $\text{Ca}^+$ 이 중요 공급원으로 작용한다(Bohr, 1973; Prosser, 1974; Kuriyama, 1977). A. II가 수축에 필요한 활성  $\text{Ca}^+$ 을 세포내로 동원하는데 어느 것을 주로 동원시키는가를 알아보기 위하여 몇 가지 실험조건 하에서 A. II의 투여효과를 관찰하였다. 세포막을 통한  $\text{Ca}^+$ -유입을 선택적으로 차단하는 verapamil(Fleckenstein, 1964; Fleckenstein et al., 1969; Kohlhardt, 1972)을 전자차단하여 세포의  $\text{Ca}^+$ 의 세포내로의 유입을 완전차단시켜 놓고 A. II의 투여 효과를 본 결과 전형적인 수축반응을 보였다(그림 5). 이러한 결과는 A. II가 수축시발에 세포내 지장고로부터 활성  $\text{Ca}^+$ 을 유리시키는 작용을 가지고 있음을 암시하며 이러한 가정은  $\text{La}^{3+}$ 을 전자차단한 실험이  $\text{Ca}^+$ -free media 내에서의 수축반응을 보아서도 더욱 확실하였다.  $\text{Ca}^+$ -free Tyrode용액에서의 A. II의 수축반응이 뚜렷하나 지속적 수축을 유지못하고 시간에 따라 감소하였고,  $\text{Ca}^+$ -추가 투여로  $\text{Ca}^+$  농도가 증가되면 수축크기는 물론 수축의 지속성도 커지는 것을 보아(그림 7, 8) A. II의  $\text{Ca}^+$  동원은 수축의 초기에는 세포내  $\text{Ca}^+$ 을 동원시키면서 동시에  $\text{Ca}^+$ -유입도 촉진시키는 것으로 생각된다.

A. II의 작용 부위에 대하여는 근 세포막에 있는 A. II-수용체(A. II-receptor)라고 생각할 수 있는 많은 실

현적 증거가 있고 (Page and Bumpus, 1961; Khairallah et al., 1966; Devynck et al., 1973; LeMorvan and Palaic, 1975; Altura and Altura, 1977; Zimmerman, 1978), 세포내의 미세기관들의 밖에도 A. II 가 작용할 수 있다는 실험성적도 있다 (Baudouin et al., 1972). 그러나 정상 생리적 상태 하에서 A. II 가 세포막을 통과 할 수 있는지는 아직 이를 뒷받침해 줄 만한 실험 사실이 없다.

A. II 의 혈관축소작용이 혈관 평활근에 대한 직접 작용에 의한 성분과 교감신경 말단에 작용하여 NE유리를 강화하여, 증가된 NE의 작용으로 수축작용이 일어나는 간접작용으로 나누어 생각할 수 있는 바, 직접작용에 대한 실험적 근거는 많다. 즉 A. II 의 수축반응은  $\alpha$  혹은  $\beta$ -차단제에 의하여 멎하지 않으며, reserpine전치치료 저장 NE를 고갈시켜도 수축반응에는 변화가 없다. 또한 A. II 질항체에 의하여 다른 수축체들 (NE, histamine, serotonin 등)의 수축반응의 크기는 약화되지 않는다 (Sakurai and Hashimoto, 1965; Palaic and LeMorvan, 1971; Regoli et al., 1974; Edvinsson et al., 1979). A. II 의 교감신경에 대한 작용으로 간접적으로 혈관축소를 일으키는 실험사실도 있으므로 (Shepherd, 1978; Zimmerman, 1978), 본 실험에서도 A. II 의 수축작용 중 간접작용 부분이 어느 정도나 기여하는지를 알아보기 위하여  $10^{-8}$ M A. II 로 일으킨 저속성 수축상태에 충분한 농도의  $\alpha$ -차단제 (2mg/1 phentolamine)를 투여하여 본 결과, 수축의 크기가 30% 정도 감소되는 것으로 보아 확실히 토끼 대동맥에서도 교감신경을 통한 간접적인 수축기전이 상당히 기여하고 있음을 나타내었다.

## 결 론

토끼 홍부대동맥을 적출하여 나신형 절연을 만들어  $35^{\circ}\text{C}$  정상 Tyrode용액에서 1시간 이상 회복시키고 0.5~1g의 피동장력을 결고 실험을 하였다. A. II 의 혈관평활근에 대한 수축기전을 밝혀보기 위하여 여러가지 조건 하에서 혈관수축에 동원되는  $\text{Ca}^{2+}$ -공급원을 분석하고, 막전압파의 관계를 관찰하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 혈관수축은  $10^{-9}$ M A. II 에서 나타났고,  $10^{-7}$ M에서 최고치를 보였으며, 최고치의 50%에 도달하는 농도는  $3.0 \times 10^{-9}$ M이었다.

2. A. II ( $10^{-8}$ M)에 6분간 노출시키고 8분마다 정상 Tyrode용액으로 3번 바꿔준뒤 30분마다 계속 반응시

켜도 전혀 수축크기에는 변화가 없었다. 즉 tachyphylaxis현상은 나타나지 않았다.

3. 등장성 K-Tyrode ( $\text{K}^+$ , 100mM) 용액으로 나신형 대동맥절편에 K-경축을 일으킨 위에다  $10^{-8}$ M A. II 를 투여하면 다시 수축을 일으켰다.

4.  $\text{Ca}^{2+}$ -길 항체인 verapamil이나  $\text{La}^{3+}$  투여로 K-경축이 완전히 억제된 상태에서도 A. II ( $10^{-8}$  M)는 혈관수축을 일으켰다.

5.  $\text{Ca}^{2+}$ -free Tyrode용액에서 A. II ( $10^{-8}$ M)는 수축을 일으켰다. 이에 단계적으로  $\text{Ca}^{2+}$ 을 첨가하였는 바 1mM  $\text{Ca}^{2+}$ 에서 최고의 수축 크기를 보였고 2mM 이상에서는 오히려 감소되었다.

6. A. II ( $10^{-8}$ M)로 일으킨 저속성 수축은  $\alpha$ -차단제에 의하여 명확하게 감소되었다.

이상의 결과들로 보아서 A. II 는 적출 혈관절편에서 교감신경을 통한 간접적인 작용과, 직접 평활근에 작용하여 세포내 저장고에서  $\text{Ca}^{2+}$  유리와 세포막을 통한  $\text{Ca}^{2+}$  유입을 모두 촉진시키는 기전을 통하여 수축을 유발하는 것으로 사료된다.

## —ABSTRACT—

### Action of angiotensin II on the vascular smooth muscle in isolated rabbit aorta

Sung Wha Hong

Department of Surgery, College of Medicine

Kyung Hee University, Seoul, Korea

(Directed by Professor Kee Yong Nam)

The activation mechanism of vascular smooth muscle by angiotensin II (A. II) was studied in isolated aorta. Helical strips of arterial muscle were prepared from the descending thoracic aorta of rabbit. All experiments were performed in  $\text{HCO}_3^-$ -buffered Tyrode solution which was aerated with 3%  $\text{CO}_2$ -97%  $\text{O}_2$  mixed gas and kept at  $35^{\circ}\text{C}$ . In the experiment for the effect of  $\text{La}^{3+}$  on the A. II-induced contraction, however, tris-buffered Tyrode solution aerated with 100%  $\text{O}_2$  was used.

Contractile response appeared from the concentration of  $10^{-9}$ M A. II, and reached a maximum level at  $10^{-7}$ M A. II. The amplitude of contraction was not

altered, if helical strips were exposed repeatedly to A. II for 6 minutes every 30 minutes, showing that there was no tachyphylaxis for the action of angiotensin II.

A. II produced a contraction even on the contracture induced by K-depolarization, and also in K-Tyrode solution pretreated with verapamil or La<sup>#</sup>.

In Ca<sup>#</sup>-free Tyrode solution, A. II induced a contraction, but the contraction was not sustained and decreased gradually. The amplitude of A. II-induced contraction was dependent on external bathing Ca<sup>#</sup>: The contraction increased dose-dependently, up to 2 mM Ca<sup>#</sup>, but above that the amplitude was decreasing.

The sustained contraction induced by 10<sup>-8</sup>M A. II was suppressed significantly by the addition of  $\alpha$ -blocker.

The results of this experiment suggest that A. II-induced contraction was developed by its direct action on the smooth muscle and also the indirect action mediated through the adrenergic endings, and that A. II action is independent of changes in transmembrane potential and associated with promoting both transmembrane Ca<sup>#</sup>-influx and the mobilization of cellular Ca<sup>#</sup>.

## REFERENCES

- Altura, B.M., and Altura, B.T.: *Vascular smooth muscle and neurophyseal hormones*. *Fed. Proc.*, 36: 1853-1860, 1977.
- Baudouin, M., Meyer, P., Fermandjian, S., and Moga, J.L.: *Calcium release induced by interaction of angiotensin in smooth muscle cell microsomes*. *Nature (London)*, 235:336-338, 1972.
- Benelli, G., Della, D., and Gandini, A.: *Angiotensin and peripheral sympathetic nerve activity*. *Brit. J. Pharmacol.*, 22:211-219, 1964.
- Blair-West, J.R., Harding, R., and McKenzie, J.S.: *Effect of sodium concentration on the vasoconstrictor action of angiotensin in the rabbit ear*. *European J. Pharmacol.*, 4:77-82, 1968.
- Bohr, D.F.: *Electrolytes and smooth muscle contraction*. *Pharmacol. Rev.*, 16:85-111, 1964.
- Bohr, D.F.: *Vascular smooth muscle updated*. *Circ. Res.*, 32:665-672, 1973.
- Casteels, R., Kitamura, K., Kuriyama, H., and Suzuki, H.: *Excitation-contraction coupling in the smooth muscle cells of the rabbit main pulmonary artery*. *J. Physiol.*, 271:63-79, 1977.
- Devynck, M.-A., Pernolle, M.G., Meyer, P., Fermandjian, S., and Fromageot, P.: *Angiotensin receptors in smooth muscle cell membranes*. *Nature new Biol.*, 245:55-58, 1973.
- Distler, A., Lieban, H., and Wolff, H.P.: *Action of angiotensin on sympathetic nerve endings in isolated blood vessels*. *Nature*, 207:764-765, 1965.
- Droogmans, G., Raeymaekers, L., and Casteels, R.: *Electropharmacomechanical coupling in the smooth muscle cells of the rabbit ear artery*. *J. Gen. Physiol.*, 70:129-148, 1977.
- Edvinsson, L., Hardebo, J.E., and Owman, C.H.: *Effects of angiotensin II on cerebral blood vessels*. *Acta Physiol. Scand.*, 105:381-383, 1979.
- Fleckenstein, A.: *Die Bedeutung der energiereichen Phosphate für Kontraktilität und Tonus des Myokards*. *Verh. Dtsch. Ges. Inn. Med.*, 70:81-99, 1964.
- Fleckenstein, A.: *Specific pharmacology of calcium in myocardium, cardiac pacemakers, and vascular smooth muscle*. *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 17: 149-166, 1977.
- Fleckenstein, A., and Grün, G.: *Reversible blockade of excitation-contraction coupling in rat's uterine smooth muscle by means of organic calcium antagonists*. *Pflügers Arch. Ges. Physiol.*, 307:R. 26, 1969.
- Furchtgott, R.F., and Bhadrakom, S.: *Reactions of strips of rabbit aorta to epinephrine, isopropylarterenol, sodium nitrite and other drugs*. *J. Pharmacol. exp. Ther.*, 108:129-143, 1953.
- Haeusler, G.: *Differential effects of verapamil on excitation-contraction coupling in smooth muscle and on excitation-secretion coupling in adrenergic nerve terminals*. *J. Pharmacol. exp. Ther.*, 180:672-682, 1972.
- Haeusler, G.: *Relationship between noradrenaline-induced depolarization and contraction in vascular smooth muscle*. *Blood Vessels.*, 15:46-54, 1978.
- Holman, M.E., Kasby, C.B., Suthers, M.B., and Wil-

- son, J.A.F.: *Some properties of the smooth muscle of rabbit portal vein.* *J. Physiol. (London)*, 196: 111-132, 1968.
- Ito, Y., and Kuriyama, H.: *Membrane properties of the smooth muscle fibres of the guinea-pig portal vein.* *J. Physiol. (London)*, 214:427-441, 1971.
- Khairallah, P.A., Page, I.H., Bumpus, F.M., and Türken, R.K.: *Angiotensin tachyphylaxis and its reversal.* *Circ. Res.*, 19:247-254, 1966.
- Kohlhardt, M., Bauer, P., Krause, H., and Fleckenstein, A.: *Differentiation of the transmembrane Na and Ca channel in mammalian cardiac fibres by the use of specific inhibitors.* *Pflügers Arch. Gesamte Physiol. Menschen Tiere.*, 335:309-322, 1972.
- Kuriyama, H., Ito, Y., and Suzuki, H.: *Effects of membrane potential on activation of contraction in various smooth muscles.* In *Excitation-contraction coupling in smooth muscles.* Casteels, R. et al., eds. pp.25-35. Elsevier/North-Holland Biomedical Press, 1977.
- Langer, G.A.: *Events at the cardiac sarcolemma; localization and movement of contractile-dependent calcium.* *Fed. Proc.*, 35:1274-1278, 1976.
- LeMorvan, P., and Palaic, D.: *Characterization of angiotensin receptor in guinea-pig aorta.* *J. Pharmacol. exp. Ther.*, 195:167-175, 1975.
- McCubbin, J.W., and Page, I.H.: *Renal pressor system and neurogenic control of arterial pressure.* *Circ. Res.*, 12:553-559, 1963.
- Mekata, F.: *Current spread in the smooth muscle of the rabbit aorta.* *J. Physiol. (London)*, 242:143-155, 1974.
- Mekata, F., and Niu, H.: *Biophysical effects of adrenaline on the smooth muscle of the rabbit common carotid artery.* *J. Gen. Physiol.*, 59:92-102, 1972.
- Page, I.H., and Bumpus, F.M.: *Angiotensin.* *Physiol. Rev.*, 41:331-390, 1961.
- Palaic, D., and LeMorvan, P.: *Angiotensin tachyphylaxis in guinea pig aortic strips.* *J. Pharmacol. exp.* *Ther.*, 179:522-531, 1971.
- Peach, M.J.: *Renin-angiotensin system: Biochemistry and mechanism of action.* *Physiol. Rev.*, 57:313-370, 1977.
- Prosser, C.L.: *Smooth muscle.* *Ann. Rev. Physiol.*, 36:503-535, 1974.
- Regoli, D., Park, W.K., and Rioux, F.: *Pharmacology of angiotensin.* *Pharmacol. Rev.*, 26:69-123, 1974.
- Rüegg, J.C.: *Smooth muscle tone.* *Physiol. Rev.*, 51: 201-248, 1971.
- Sakurai, T., and Hashimoto, Y.: *Vasoconstrictor action of angiotensin in relation to catecholamine.* *Jap. J. Pharmacol.*, 15:223-233, 1965.
- Sandow, A.: *Excitation-contraction coupling in skeletal muscle.* *Pharmacol. Rev.*, 17:265-320, 1965.
- Shepherd, J.T.: *Alteration in activity of vascular smooth muscle by local modulation of adrenergic transmitter release.* *Fed. Proc.*, 37:179-180, 1978.
- Somlyo, A.P., and Somlyo, A.V.: *Vascular smooth muscle. I. Normal structure, pathology, biochemistry and biophysics.* *Pharmacol. Rev.*, 20:197-272, 1968.
- Somlyo, A.P., and Somlyo, A.V.: *Vascular smooth muscle, II. Pharmacology of normal and hypertensive vessels.* *Pharmacol. Rev.*, 22:249-353, 1970.
- Su, C., Bevan, J.A. and Ursillo, R.C.: *Electrical quiescence of pulmonary artery smooth muscle during sympathomimetic stimulation.* *Circ. Res.*, 15:20-27, 1964.
- van Breemen, C.: *Blockade of membrane calcium fluxes by lanthanum in relation to vascular smooth muscle contractility.* *Archives Internationales de Physiologie et de Biochimie*, 77:710-716, 1969.
- Vothe, D., Agsten, M., Schipp, R. et al.: *Untersuchen zur Wirkung von Angiotensin II auf einen autorhythmischen glatten Gefäß muskel (Pfortader der Ratte).* *Arch. Kreislaufforsch.*, 65:41-57, 1971.
- Zimmerman, B.G.: *Action of angiotensin on adrenergic nerve endings.* *Fed. Proc.*, 37:199-202, 1978.