

흰쥐 자궁근에서 Na-제거 경축 및 Ba-경축에 관한 연구*

A study on the contractures produced by sodium-removal and barium-exposure in rat myometrium

서울대학교 醫科大學 産婦人科學教室 및 生理學教室*

李 養 雨·張 潤 錫·嚴 隆 義*

서 론

평활근이 수축하기 위해서는 세포막에 생긴 전기적 변화가 수축기구의 움직임으로 바뀌어야 한다. 이러한 일련의 과정이 흥분-수축 연결(excitation-contraction coupling)인데 이 과정에 중요한 매체(coupler)가 Ca^{2+} 인 것은 잘 알려진 사실이다(Edman and Schild, 1962; Hodgson and Daniel, 1973). 횡문근에서는 흥분-수축 연결물질로서의 Ca^{2+} 공급은 근장그물(sarcoplasmic reticulum)을 비롯한 세포내 저장고가 중요한 역할을 하는데 비하여 평활근에서는 세포내 저장고의 발달이 뚜렷하지 않으며(Kuriyama et al., 1977), 오히려 세포막에 결합된 형태의 Ca^{2+} 과 세포외액의 Ca^{2+} 이 중요한 공급원으로서 알려져 있다(Prosser, 1974).

이 외에도 세포외액의 Ca^{2+} 은 세포막의 흥분성(excitability)을 조절하며(Osa, 1973a), 세포와 세포간의 흥분전달에도 중요한 구실을 하고(Bülbring and Tomita, 1970) 환동전압을 일으키는 내향전류(inward current)에도 직접 참여한다(Bülbring and Kuriyama, 1963; Abe, 1971)는 등 여러가지 역할을 담당하고 있다. 그러나 이와 같은 여러 단계에 대한 Ca^{2+} 의 작용은 전기생리학적인 방법(막전압, 고정압 등)을 사용하여 분리해서 분석하여야 하나 현재까지 만족할만한 방법이 개발되지 못하였다(Tomita, 1981).

이에 저자는 발정기에 있는 쥐(rat)의 자궁평활근의 종주근(longitudinal muscle)과 윤상근(circular muscle)에서 Na^+ 을 제거하여 경축을 일으키고 또 신경이나 심장근에서 K^+ -통로를 억제한다(Noble, 1979)고 알려진 Ba^{2+} 을 투여하여 Ba^{2+} -경축을 일으켜서 그 경축에

대한 Ca^{2+} 의 영향을 보기 위하여 세포외액의 Ca^{2+} 농도를 변화시키고 Ca^{2+} 유입 억제제인 Mn^{2+} 을 써서 Na-Ca 교환기전 및 Ca^{2+} 공급원에 대한 효과를 분석하였다.

실험 방법

체중 150~200 g 정도의 흰쥐를 ether 마취 후 경동맥을 절단 실험시켜 회생시킨 후 개복하여 재빨리 자궁을 적출하였다. 100% 산소로 평형을 이루고 실온의 Tris-완충 Tyrode 용액이 든 준비용기에 옮겨 주위 조직을 잘라내고 자궁을 열었다. 입체현미경 하에서 미세수술용 forceps을 사용하여 자궁내막(endometrium)을 아주 조심스럽게 벗겨내고 자궁 horn(uterine horn)의 종주(longitudinal) 혹은 윤상(circular) 방향으로 면도날(razor blade)로 폭 0.3mm, 길이 5mm가량 되도록 잘라냈다. 이런 자궁근 절편을 한쪽은 직경 0.14 mm가량의 핀으로 고정하고 다른 한쪽은 투명실 한가닥으로 묶고 고리를 만들었다. 본 실험에서 발정주기(oestrus cycle)의 시기에 따라 경축의 차이를 볼 수는 없었으나 vaginal smear에 의해 주로 발정기(oestrus)에 있는 쥐를 사용하였다.

종주근과 윤상근 절편은 0.3×3~4mm 가량의 크기었는데 충분히 회복시킨 다음(1~2시간) 실험용기에 옮겼다. 실험용기는 Perspex로 제작한 것으로 바닥은 sylgard를 부어 핀이 쉽게 꼽힐 수 있게 하였다. 용기의 용적은 0.2ml이고 용액의 관류속도는 LKB 펌프를 이용하여 1 ml/min로 고정하였고 실험용기에 옮긴 절편은 정상 Tyrode 용액으로 30분~1시간동안 회복시켰다. 정상 Tyrode용액의 조성은 NaCl 140mM; KCl 3mM; $CaCl_2$ 2mM; $MgCl_2$ 1mM; glucose 5mM; Tris 5mM(35°C에서 pH 7.4가 되게 하였다)이었다. NaCl의 농도를 바꿔주는 실험에서는 동일한 농도의 Tris로 대체하였고(일부 실험에서는 Li^+ 으로 대체)

† 접수일자 : 1983. 12. 15.

* 본 論文의 要旨는 1984年 4月 6日 釜谷溫泉에서 舉行된 大韓産婦人科學會 第53次 學術大會에서 發表되었음.

Ca²⁺농도 변화는 삼투질 농도를 고려하지 않고 변화시켰다. 수축의 크기는 반도체 장력변환기(semiconductor transducer, Akers, AE 803)를 실험조에 연결하여 전치증폭기를 통하여 Device 및 Grass기록기에 기록하였다.

실험에 사용한 Mn²⁺, Ba²⁺은 MnCl₂, BaCl₂의 형태로, 자발적 수축을 잘 보기 위하여 oxytocin 0.2mu/ml 혹은 prostaglandin F_{2α} (PG F_{2α}) 0.1μg/ml의 농도로 사용하였다. 자궁근의 자발적 수축의 크기 및 수축기간은 절편의 폭이나 길이에 따라 즉 얼마나 많은 부분이 동일한 시간에 수축에 참여하는가의 정도에 따라서 달라지기 때문에 되도록 작고 짧은 절편에서 실험을 시도하였다. 또 oxytocin이나 PG F_{2α}로 처리하지 않은 절편에서는 자발적 수축의 빈도와 크기가 매우 불규칙하여 절편 자체의 상태를 파악하기 어려웠다. 따라서 oxytocin이나 PG F_{2α}를 투여하여 규칙적이고 일정한 크기의 수축을 나타내는 절편만을 골랐으며 모든 경우 조건간의 비교는 동일 절편에서 자발적 수축의 크기가 거의 달라지지 않는 경우만을 유의한 결과로 분석하였으며 이런 실험결과가 5례이상 같은 결과를 보이는 경우만을 의의있는 실험결과로 채택하였다. 따라서 같은 결과를 얻었다 해도 자발적 수축의 크기가 변화한 것 혹은 전형적인 경축의 양상을 보이지 않는 것은 절편의 상태가 좋지 않은 것으로 판단해서 버렸고 실험의 성적 분석이 집단간의 비교나 정량적인 분석이기보다는 동일 절편에서의 정성적 분석이기 때문에 통계학적 처리 방법은 채택하지 않았다.

실험 성적

1. 자궁근 자발수축에 대한 oxytocin과 prostaglandin F_{2α}의 효과

자궁근 절편의 자발적 수축은 발정주기의 시기에 따

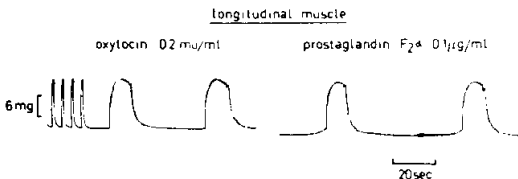


Fig. 1. Effects of oxytocin and prostaglandin F_{2α} on the spontaneous activity in the longitudinal muscle of the rat myometrium at oestrus stage. Magnitude of contractions produced by oxytocin and PG F_{2α} was almost same, but slight difference was noticed in initial segment of contraction.

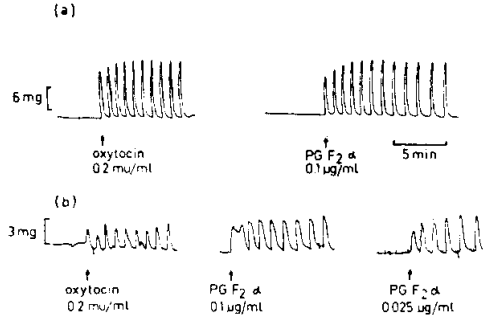


Fig. 2. Comparison of the effects of PG F_{2α} to the longitudinal (a) and circular (b) muscle in relation to the effect of same contractions of oxytocin. Spontaneous contractions in the circular muscle in the concentration of 0.25 μg/ml of PG F_{2α} were similar to those in 0.1 μg/ml of PG F_{2α} in the longitudinal muscle.

라서 상당히 다르며 수축빈도 또한 상당히 불규칙하고 느리다. 이런 상태에서는 자궁근의 상태를 짐작하기 어렵기 때문에 수축을 촉진시키는 물질로 알려진 oxytocin과 prostaglandin을 투여하여 그 효과를 보았다. 그림 1에 종주근에서 0.2mu/ml의 oxytocin에 의하여 매우 규칙적인 자발적 수축을 보인다. 이 oxytocin에 의한 자발수축과 비슷한 수축곡선과 빈도를 보이는 PG F_{2α}의 농도는 0.1μg/ml였으며 전반적인 양상은 비슷하였다. 그러나 PG F_{2α}에 의한 수축은 수축이 시작할 때 완만한 수축이 선행한 다음, 급속한 큰 수축이 뒤따르는데 비하여 oxytocin에서는 완만한 수축의 선행이 보이지 않았다. Oxytocin과 PG F_{2α}의 종주근과 윤상근에 대한 효과를 비교하여 보았다. 종주근에서는 oxytocin 0.2mu/ml 농도와 PG F_{2α} 0.1μg/ml의 농도에서 비슷한 효과를 나타냈으며 윤상근에서는 0.1μg/ml의 PG F_{2α}에 의하여 수축기간이 길어지고 수축의 크기가 커졌으며 0.025μg/ml 농도에서 비슷한 모양의 수축을 보였다.

용액속에 oxytocin이나 PG F_{2α}가 들어있지 않는 상

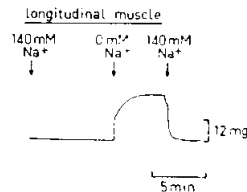


Fig. 3. Effect of sodium-removal on the silent longitudinal muscle (neither treated with oxytocin nor PG F_{2α}). Contracture was developed in Na⁺-free solution.

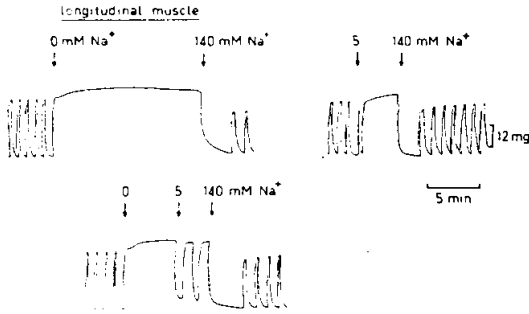


Fig. 4. Effects of Na⁺-free and 5mM Na⁺ solution on the mechanical activity of the longitudinal muscle. Following exposure to Na⁺-free or 5mM Na⁺ for 5 min., tonic contractures were developed and maintained, and then 140mM or 5mM or 5mM Na⁺ was added, relaxations occurred immediately. Sodium was isosmotically replaced with Tris.

태하에서도 0mM Na⁺에 의하여 지속적 수축 즉 경축이 나타났다(그림 3). 그러나 경축이 지난 후 경축전 정상 상태에 도달하였는지 여부를 판단하기는 어려웠다. 그래서 대개의 경우 oxytocin이나 PG F_{2α}를 투여하여 자발수축의 크기, 빈도 등이 일정해진 후에야 다음 단계의 실험을 하였다. Oxytocin 처리에 의해 자발적 수축이 계속된 절편에서도 0mM Na⁺에 의해 경축이 나타났다.

Na⁺을 Li⁺으로 대체하여 0~5mM Na⁺ 농도로 만들었을 때는 경축이 나타나지 않았으나 Tris로 대체하였더니 경축이 일어났다(그림 4).

이와 같은 성격은 PG F_{2α}에 대한 감수성(sensitivity)이 종주근보다 윤상근에서 더욱 예민함을 나타내는 것이다.

2. Na⁺-제거 경축(Na⁺-removal contracture)

0mM Na⁺에 의한 경축은 정상 Tyrode용액으로 다시 관류하니 즉시 이완이 일어났다. 종주근에서의 경축은 시간에 따라 점차 증가하는 경향을 보이거나 plateau를 유지하는 주로 지속성 수축성분(tonic component)이 나타났다. 5mM Na⁺에서도 경축이 일어났다. 그러나 0mM Na⁺에 의해 일어난 경축을 5mM Na⁺ 농도 용액으로 관류하니 완전하지는 않으나 이완이 일어났다.

한편 윤상근에서는 일반적으로 동일한 크기의 절편에서 발생하는 장력의 크기 자체가 종주근에 비하여 작았다. 그림 5에 보이는 것처럼 위상성 수축성분은 자발적 수축에서도 나타났지만 0mM Na⁺에 의한 경축의 경우 지속성 수축성분(tonic contraction) 위에 작

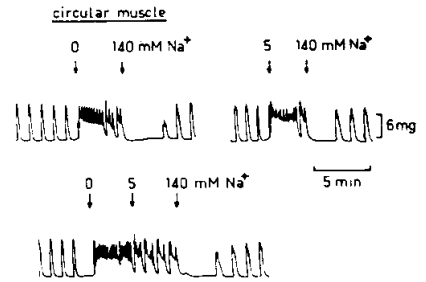


Fig. 5. Effects of Na⁺-free and 5mM Na⁺ solution on the mechanical activity of the circular muscle. Most findings were essentially similar to Fig. 4. except irregular fluctuations of contraction superimposed on smaller tonic contracture.

은 수축이 빠르게 반복하는 특징적 양상을 나타내었고 시간이 지남에 따라 경축 크기도 서서히 감소하였다. 종주근에서와 마찬가지로 정상 Tyrode용액(140mM Na⁺)에 의해 바로 이완이 일어났고 5mM Na⁺에 의해 서도 비슷한 경축이 일어났으며 0mM Na⁺에 의해 나타난 경축이 5mM Na⁺에 의해 이완이 일어났다. 종주근에서 일어났던 0mM Na⁺에 의한 경축은 자발 수축 크기보다 상당히 컸는데 비하여 윤상근에서의 경축의 크기는 자발 수축 크기와 비슷하거나 혹은 약간 작은 크기였다.

3. Ba²⁺의 효과

자궁근을 비롯한 위장관계, 혈관계 평활근의 전기작성절에 대해서는 그리 알려진 바가 없으며 특히 세포막을 통한 이온 전류에 대한 지식은 평활근의 구조적 특이성 때문에 성공적인 막전압 고정법을 응용할 수 없었기 때문에 더욱 불명확한 점이 많다(Kuriyama, 1968). Ba²⁺은 골격근이나 심장근에 존재하는 재분극을 일으키는 전류 i_K⁺와 background 전류인 i_K⁺ 등을 억제한다는 것은 많이 알려졌고 실험의 방법으로서 사용되어 왔는데 이러한 Ba²⁺의 효과는 정상 안정막전압 상태에서 gK⁺를 감소시켜 막전압을 탈분극시키는 것이 주된 작용으로 생각되어 왔다(Noble, 1979). 이와 같은 효과를 갖는 Ba²⁺을 자궁근에 투여하여 본 것이 그림 6에 보인다. 종주근과 윤상근에서 특징적인 경축이 2mM의 Ba²⁺에 의하여 일어났다. 두 근육에서 일어나는 경축은 약간의 차이를 보였다.

즉 종주근에서의 Ba²⁺에 의한 경축은 위상성 수축성분은 거의 없고 거의 모두 지속성 수축성분 모양을 보였으나 윤상근에서는 자발적 수축보다는 크며 바로 감소하는 위상성 수축성분이 선행한 다음 지속성 수축성분의 느린 감소양상을 보였다.

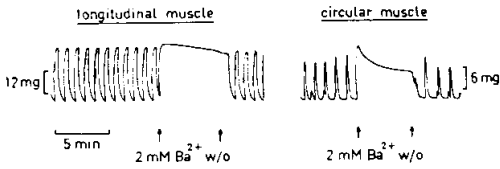


Fig. 6. Effects of barium (2mM) on the contractions of myometrium. In longitudinal muscle contracture was developed immediately after barium exposure and gradually decreased in tonic component, and in the circular muscle initial phasic components appeared and late tonic contracture followed.

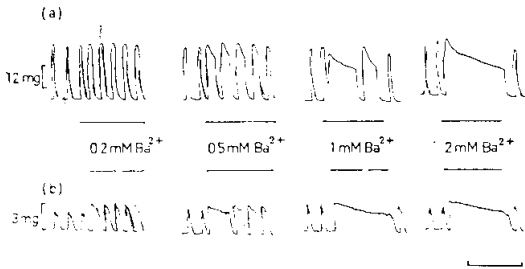


Fig. 7. Concentration-dependent development of contracture by barium. In lower concentrations of barium (0.2 and 0.5mM), short, fused contractions appeared and in 1mM solution contractures were fully developed in the circular muscle (b) but not in the longitudinal (a) muscle. 2 mM Ba²⁺ produced full contracture in two muscles.

이와 같은 Ba²⁺의 경축유발 효과를 Ba²⁺의 농도별로 본 것이 그림 7이다. 0.2mM, 0.5mM의 농도에서는 수축의 기간이 길어지기는 하나 완전한 경축은 종주근, 윤상근 모두에서 볼 수 없었다. 1mM의 농도에서 종주근에서는 지속되지 못하는 불완전 경축을 보였으나 윤상근에서는 완전한 경축이 일어났다. 2mM 농도에서는 두 근육 모두에서 경축이 일어났다. Ba²⁺에 의한 경축 유발효과는 종주근보다 윤상근에서 더욱 예민하게 나타남을 시사하는 결과였다.

4. Ca²⁺의 효과

2mM의 Ba²⁺에 의하여 유발되는 경축(Ba²⁺경축)에서 관류하는 Tyrode용액의 Ca²⁺농도를 2, 6, 12mM로 각각 변화시켰을 때 나타나는 경축의 변화를 그림 8에 보인다. 종주근에서나 윤상근에서나 Ca²⁺농도가 증가하면 주로 지속성 수축성분의 크기가 증가하였다. 위상성 수축성분의 크기는 비교적 Ca²⁺농도 변화에 무관하였다. Ca²⁺농도를 12mM로 증가시켰을 때 지속성 수축성분의 크기는 따라서 증가하였으나 Ba²⁺경축은 지속을

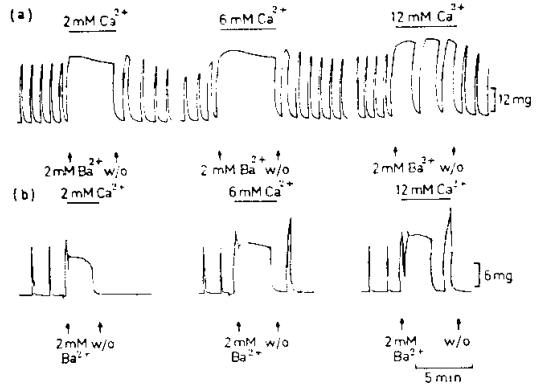


Fig. 8. Effect of calcium on the Ba²⁺-contracture. Tonic components of the longitudinal (a) and circular (b) muscles were increased with external calcium concentrations. In 12mM Ca²⁺, contractures were not maintained and spontaneously relaxed.

하지 못하고 Ba²⁺에 노출되어 있는데도 자연적인 이완이 일어났다 다시 경축이 일어나는 소견을 보였다. 이런 자연적 이완 현상은 종주근에서 더욱 뚜렷하였다.

그림 9에 0.5mM의 Mn²⁺을 전처치한 다음 Ba²⁺경축 효과를 Mn²⁺으로 처리하지 않았던 경우와 비교하여 표시하였다. 0.5mM의 Mn²⁺으로 10분간의 전처치한 다음 2mM의 Ba²⁺을 가하여 Ba²⁺경축을 일으켜 본 것이다. 종주근에서는 10분간 전처치 동안 자발적 수축의 크기는 감소하였으나 완전히 소실되지 않았고 윤상근에서는 바로 자발적 수축이 소실되었다. 또한 Ba²⁺경축은 종주근에서나 윤상근에서 모두 Mn²⁺으로 처리하지 않았던 경우에 비하여 처음의 위상성 수축성분의

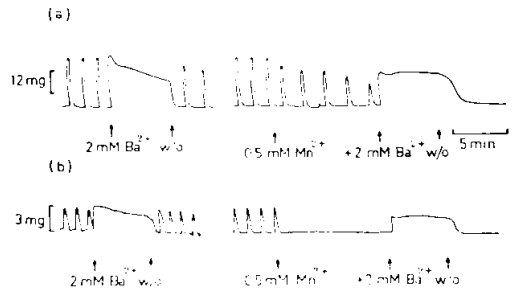


Fig. 9. Effects of low grade inhibition of Ca²⁺-influx by 0.5mM Mn²⁺ Spontaneous contractions in the longitudinal muscles (a) gradually decreased while disappeared in the circular muscles (b). Contractures of two muscles, mainly phasic component, decreased by Mn²⁺ and spontaneous contractions after washing out with normal Tyrode solution didn't recover in 30 minutes.

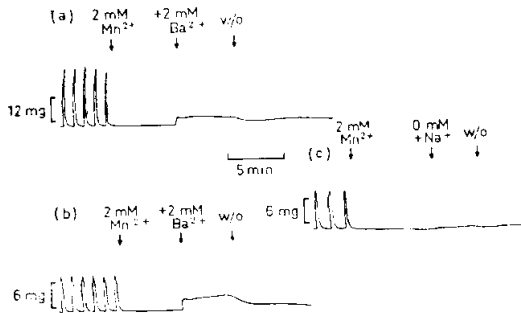


Fig. 10. Effects of Mn^{2+} on mechanical responses of myometrium. Spontaneous contractions disappeared and very small tonic components were developed by Ba^{2+} or Na^+ -free exposures. (c) & (a) indicates mechanical responses in the longitudinal muscles, and (b) in the circular muscles.

크기는 감소하였다. 그러나 지속성 수축성분은 크기를 바로 비교할 수는 없으나 시간이 지남에 따라 감소하는 양상은 Mn^{2+} 처리군에서 보이지 않고 plateau를 유지하는 모양을 보였다.

다음 2mM의 Mn^{2+} 으로 Ca^{2+} 의 유입을 더욱 억제시켜본 것이 그림 10이다. 종주근, 윤상근에서 모두 Mn^{2+} 전처리 시기에 자발적 수축은 소실되었다. a)b)에서 보인 Ba^{2+} -경축이나 c)에서 보인 0mM Na^+ -경축의 경우에서나 모두 크기는 작았으나 경축이 나타났다. 0mM Na^+ 에 의한 경축의 크기는 Ba^{2+} -경축에 비하여 크기가 더욱 작았다. 또한 정상 Tyrode용액으로 갈아주었을 때 이완이 일어났다. 그러나 이때의 이완은 대단히 느린 시간경과를 보였고 자발적 수축은 30분 이내에는 회복되지 않았다.

고 찰

1. 자발적 수축에 대한 oxytocin 및 PG $F_{2\alpha}$ 의 영향

자궁근의 자발적 수축은 발정주기의 시기에 따라 달라지는데 oxytocin 및 PG는 자발적 수축을 일으키는 작용을 가진다. 이런 작용은 임신 시기에 따라서도 달라지는데 oxytocin은 주로 임신 말기에 감수성(sensitivity)이 증가하며 PG(PG E_2)에 대한 감수성은 임신 중기부터 증가한다는 사실이 알려져 있다(Kuriyama and Suzuki, 1976). 비임신 자궁근에 대한 감수성은 임신기처럼 분명하지 않으나 본 실험결과에서 본 것처럼 oxytocin에 대한 감수성을 기준으로 보아 0.2 μ /ml의 농도에 대한 반응과 비슷한 효과를 보이는 PG $F_{2\alpha}$

의 농도를 결정하였다. 종주근에서보다 윤상근에서 PG $F_{2\alpha}$ 에 대한 감수성이 높은 사실은 PG $F_{2\alpha}$ 가 위상성 수축성분에 더욱 촉진적으로 작용하리라는 짐작을 하나 구체적으로 단정지을 수는 없을 것 같다.

2. Na^+ -제거에 의한 경축

종주근이나 윤상근에서 모두 Na^+ -제거에 의해 경축 현상을 보인 것은 여러 저자들의 실험결과와 잘 일치한다. 그러나 Na^+ -제거가 어떠한 기전에 의하여 경축을 유발하는가에 대해서는 크게 두가지 다른 해석이 존재한다. 첫째 가설은 Na^+ -제거 자체가 어떤 기전을 통하는지는 분명하지 않지만 Ca^{2+} 에 대한 투과성을 증가시키고 이러한 양이온의 세포내 유입에 의하여 막전압이 탈분극되리라는 생각(Osa, 1971; Osa, 1973a)과 두번째 가설은 Na^+ -제거가 electrogenic한 이온 운반에 영향을 주어서 세포막 전압을 탈분극시키고 그 결과로 Ca^{2+} 이 세포내로 유입되어 경축이 생긴다는 학설(van Breemen et al., 1979; Sakamoto and Tomita, 1982)이다. 후자의 가설을 증명하는 실험적 증거로 Na^+ 을 제거하고 Ca^{2+} 억제제인 verapamil을 투여해도 여전히 막전압은 탈분극 상태에 있다는 점이다. 그러나 심장근 등에서 기술되었던 Na-Ca 교환기전(Reuter and Seitz, 1968; Baker et al., 1969; Brading et al, 1980; Brading, 1981) 또한 관여했을 가능성이 높으며 특히 0mM Na^+ 에 의한 경축이 5mM Na^+ 에 의해 이완되는 현상은 바로 Na-Ca 교환기전이라고 생각된다. 문제는 세포내 Na^+ 농도가 5mM 이하라야 이완의 설명이 가능한데 5분간 0mM Na^+ 에 노출한 동안 과연 세포내 Na^+ 농도가 5mM 이하로 떨어질 수 있을 것인가는 직접 세포내 Na^+ 농도를 재기 전에는 확실치 않다. 다음 종주근에서의 Na^+ -제거 경축은 주로 지속성 수축성분이 나타난데 비하여 윤상근에서는 일정한 수준의 경축이 지속되지 않고 반복되는 위상성 수축이 존재하는 것으로 보아 Na^+ -제거에 의해 활동전압이 종주근에서처럼 사라지는 것(Osa, 1971; Osa, 1973a)이 아니고 반복적으로 활동전압의 다발이 생김을 의미한다고 할 수 있겠다. 이러한 Na^+ 제거에 의한 막전압의 변화는 위(stomach)의 윤상근에서도 증명된 바 있다(Ohba et al., 1977; Sakamoto and Tomita, 1982).

3. Ba^{2+} 의 효과

Ba^{2+} 은 일반적으로 세포막을 통한 K^+ -전도도를 감소시키는 것으로 알려져 있다(Noble, 1979). 자궁근에서의 전기생리학적인 이온 전류의 지식은 그리 많지 않다. 그러나 이온 전류로서 내향 Na^+/Ca^{2+} 전류와 외향 K^+ 전류가 알려져 있다(Vassort, 1965; Kao and McCullough, 1975; Vassort, 1981). 따라서 자궁근에

서 K⁺ 전류를 억제하여 막전압을 약간 탈분극시켜 심장근에서 보는 것과 같이 자발적 수축의 빈도가 증가되기를 기대하였다. 그러나 결과는 Ba²⁺ 농도에 따라 차이는 있었으나 2mM에서부터는 특징적인 경축 현상을 보였다. 이 결과는 Ba²⁺이 막전압을 적어도 0~5mM Na⁺으로 했을 때 -55mV부터 -25~-35mV까지 막전압을 탈분극시킨 것 이상으로 탈분극시킨 것을 알 수 있었다. 또한 윤상근에서 0mM Na⁺에 의한 경축은 지속성 수축성분에 위상성 수축이 반복되는 모양을 보인 것과는 달리 지속성 수축이 그냥 지속되는 것으로 보아 약간의 차이가 있음을 암시한다. 이제까지 경축은 Na⁺-제거나 K⁺을 높은 농도로 가하여 주로 일으켰으나 본 실험결과처럼 Na⁺, K⁺ 농도에 변화를 주지 않고 낮은 농도의 Ba²⁺을 첨가하여 경축을 일으키게 되어 Na⁺-제거 혹은 고농도의 K⁺첨가에 따른 다른 작용을 없앨 수 있게 되어 매우 유용한 실험방법이 될 수 있으리라고 생각된다.

이렇게 일으킨 Ba²⁺경축에 세포외액의 Ca²⁺농도 변화는 주로 지속성 수축성분을 변화시켰고 위상성 수축에는 거의 영향이 없었다. 이 결과는 K⁺-경축에서 Ca²⁺농도 변화가 주로 지속성 수축성분에 영향을 준다는 보고(Osa, 1973b)와 잘 일치하며 지속성 수축성분이 보다 더 Ca²⁺의 세포막 유입에 따라 결정된다는 것을 알 수 있겠다. 그리고 12mM의 Ca²⁺에 의해서 종주근 및 윤상근 모두에서 경축이 유지되지 못하고 이완된 것은 Ca²⁺의 다른 효과 즉 세포막의 흥분성을 안정시키는 작용(Osa, 1973a)때문에 Ba²⁺의 탈분극 효과를 어느 정도 중화시켰기 때문인 것으로 추측된다.

4. Ca²⁺ 유입 억제제인 Mn²⁺의 효과

Mn²⁺은 세포막을 통한 Ca²⁺이동을 비교적 선택적으로 억제하며(Reuter, 1973), 이런 억제작용은 자궁근에서 Na⁺제거때 생기는 탈분극을 억제하였고 그 결과 경축을 방지하였다(Osa, 1973a)는 실험결과로 미루어 보아 농도에 따라서 Ca²⁺유입을 억제하는 효과가 기대되었다. 0.5mM의 농도에서 Mn²⁺은 윤상근의 자발적 수축을 완전 억제하였으며 경축의 초기성분 특히 위상성 수축성분을 감소시켰으나 종주근 및 윤상근에서 보았던 지속성 수축성분의 시간에 따른 감소현상은 오히려 없어지고 일정한 수준의 경축을 유지하였다. 이 결과는 낮은 농도의 Mn²⁺이 Ca²⁺유입을 억제하는 효과 이외에 Na-Ca 교환기전에 의한 Ca²⁺의 유출 또한 일부 억제하기 때문인 것으로 해석된다. 2mM의 Mn²⁺에 의해서는 종주근 및 윤상근 모두에서 자발적 수축이 소실되었으며 Ba²⁺경축은 크기는 작았으나 지속성 성분이 주로 나타났고 0mM Na⁺에 의해서도 아주 작

는 하나 경축이 나타났다. 정상용액으로 갈아 주었을 때 나타나는 이완이 Mn²⁺ 처리전의 단순한 Ba²⁺ 경축과는 달리 대단히 느린 시간 경과를 보이는 것은 Ca²⁺의 유출을 억제하는 것으로 해석될 수 있겠다.

이상의 사실로 보아 Na⁺제거에 의한 경축 및 Ba²⁺ 경축 모두에서 생각할 수 있는 Ca²⁺의 공급원 성분을 나열해 보면 하나는 위상성 수축을 일으키는 성분으로 세포막 Ca²⁺농도와 둔하게 관계있고 둘째는 지속성 수축을 일으키는 성분으로 세포막 Ca²⁺과 직접적인 밀접한 관계를 보이는 것 그리고 셋째로 Mn²⁺에 의해서도 억제되지 않은 아마도 세포내 저장고와 관련된 공급원이 있으리라는 Masahashi와 Tomita(1983)의 가정을 그대로 원용할 수 있을 것 같다.

결론

자궁근 수축에 관여하는 Ca²⁺의 공급원에 대한 지견을 얻고자 종주근 및 윤상근을 0.3×3~4mm의 작은 절편으로 만들어 자발적 수축 및 경축을 일으키고 그 결과를 분석하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. Oxytocin(0.2mu/ml)과 prostaglandin F_{2α}(0.1μg/ml)는 종주근 및 윤상근에서 규칙적인 자발적 수축을 일으켰으며 PG F_{2α}는 윤상근에서 더욱 감수성이 높았다.

2. 정상 Tyrode용액 속의 Na⁺을 Tris로 대체하여 0~5mM Na⁺농도로 하니 경축이 일어났으며 종주근에서는 주로 지속성 성분이 윤상근에서는 위상성 및 지속성 성분이 나타났다. 또한 0mM Na⁺-경축은 5mM Na⁺이 든 용액에 의하여 이완이 일어났다.

3. 2mM의 Ba²⁺에 의하여 종주근 및 윤상근에서 모두 경축이 일어났으며 윤상근의 경축은 종주근에 비하여 위상성 수축성분이 선행하였다. 세포외액의 Ca²⁺농도에 의하여 주로 경축의 지속성 수축성분이 증가하였으며 12mM의 Ca²⁺농도에서는 경축이 지속되지 못하였다.

4. Ca²⁺유입 억제제인 Mn²⁺에 의하여 Ba²⁺경축의 크기는 감소하였으나 2mM의 Mn²⁺에 의해서도 완전 소실되지는 않았다.

이상의 결과로 보아 낮은 농도의 Na⁺에 의한 경축은 막전압의 탈분극 및 Na-Ca 교환기전에 의해 일어나고 Na-Ca 교환기전이 이완에 중요한 역할을 하며 2mM Ba²⁺에 의한 자궁근의 경축은 주로 세포외액의 Ca²⁺농도에 따라 결정되나 2mM Mn²⁺에서도 지속성 수축성분이 남아 있는 것으로 보아 세포외액 Ca²⁺에 무관한 다른 Ca²⁺ 공급원이 존재하리라고 사료된다.

—ABSTRACT—

A study on the contractures produced by sodium-removal and barium-exposure in rat myometrium

**Yang Woo Lee, Yoon Seok Chang,
Yung E. Earm***

*Departments of Obstetrics and Gynecology and
*Physiology, College of Medicine, Seoul
National University*

Mechanical responses to Na⁺-removal and Ba²⁺-exposure were investigated in order to elucidate the calcium sources for muscle contraction in the longitudinal and circular muscles of rat myometrium. All experiments were performed in Tris-buffered Tyrode solution and preparations were usually taken from the uterus at oestrus stage.

The results obtained were as follows:

1. Oxytocin (0.2μm/ml) and prostaglandin F_{2α} (0.1μg/ml) induced regular spontaneous contractions of the longitudinal and circular muscles of myometrium. The response of the circular muscle to PG F_{2α} was more sensitive than that of the longitudinal muscle.

2. When most of sodium in Tyrode solution was replaced with Tris, mechanical contracture which has two components, tonic component was more prominent in the longitudinal muscle and phasic component in circular muscle, were produced. The contractures were relaxed immediately after readmission of sodium of normal and 5mM concentrations.

3. Ba²⁺ (2mM) induced an initial phasic contracture and a sustained tonic contracture. The tonic components were dependent upon the external calcium concentrations, but in higher concentrations of calcium (12mM) were spontaneously relaxed.

4. Mn²⁺, in the concentration of 0.5mM, which is known to be calcium-influx antagonist, reduced the magnitude of Ba²⁺-contracture, mainly phasic component and in 2mM concentration abolished contracture, but not completely.

The above results indicate that there are three

components in mechanical contracture to Na⁺-removal and Ba²⁺-exposure: the phasic and tonic components which are highly Ca²⁺-dependent and the third small tonic component, which is independent of external Ca²⁺. Most of the phasic and tonic responses seem to be due to increased calcium influx during membrane depolarization. And a Na-Ca exchange mechanism is considered to contribute to transient phase of the response to Na⁺-removal and Na⁺-readmission.

REFERENCES

- Abe, Y.: *Effects of changing the ionic environment on passive and active membrane properties of pregnant rat uterus.* *J. Physiol.*, 214:173-190, 1971.
- Baker, P.F., Blaustein, M.P., Hodgkin, A.L., and Steinhardt, R.A.: *The influence of calcium on sodium efflux in squid axons.* *J. Physiol.*, 200:431-448, 1969.
- Brading, A.F., Burnett, M. and Sneddon, P.: *The effect of sodium removal on the contractile responses of the guinea-pig taenia coli to carbachol.* *J. Physiol.*, 306:411-429, 1980.
- Brading, A.F.: *Ionic distribution and mechanisms of transmembrane ion movements in smooth muscle.* In *Smooth Muscles: An Assessment of current knowledge*, ed. Bülbiring, E., Brading, A.F., Jones, A. W., and Tomita, T., pp.65-92. Edward Arnold, London, 1981.
- Bülbiring, E. and Kuriyama, H.: *Effects of changes in the external sodium and calcium concentrations on spontaneous electrical activity in smooth muscle of guinea pig taenia coli.* *J. Physiol.*, 166:29-58, 1963.
- Bülbiring, E. and Tomita, T.: *Effects of Ca removal on the smooth muscle of the guinea pig taenia coli.* *J. Physiol.*, 210:217-232, 1970.
- Daniel, E.E. and Janis, R.A.: *Calcium regulation in the uterus.* *Pharmacol. Therap. B.*, 1:695-729, 1975.
- Edman, K.A.P. and Schild, H.O.: *The need for calcium in the contractile responses induced by acetylcholine and potassium in the rat uterus.* *J. Physiol.*, 161:424-441, 1962.
- Hodgson, B.J. and Daniel, E.E.: *Studies concerning*

- in the source of calcium for contraction of rat myometrium. *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, 51:914-932, 1973.
- Kao, C.Y. and McCullough, J.R.: Ionic currents in the uterine smooth muscle. *J. Physiol.*, 246:1-36, 1975.
- Kuriyama, H.: Ionic basis of smooth muscle action potentials. In *Handbook of Physiology, Section 6, Vol. 4, 1767-1791*, ed. Code, C.F. Washington D.C.: American Physiological Society, 1968.
- Kuriyama, H., Ito, Y. and Suzuki, H.: Effects of membrane potential on activation of contraction in various smooth muscle. In *Excitation-Contraction Coupling in Smooth Muscle*, 25-35, ed. Casteels, R. et al. Elsevier: North-Holland Biomedical Press, 1977.
- Kuriyama, H. and Suzuki, H.: Effects of prostaglandin E₂ and oxytocin on the electrical activity on hormone treated and pregnant rat myometria. *J. Physiol.*, 260:335-349, 1976.
- Masahashi, T. and Tomita, T.: The contracture produced by sodium removal in the non-pregnant rat myometrium. *J. Physiol.*, 334:351-363, 1980.
- Noble, D.: *The initiation of the heartbeat*, 2nd ed. Clarendon press, Oxford, 1979.
- Ohba, M., Sakamoto, Y. and Tomita, T.: Effects of sodium, potassium, and calcium ions on the slow wave in the circular muscle of the guinea-pig stomach. *J. Physiol.*, 267:167-180, 1977.
- Osa, T.: Effect of removing the external sodium on the electrical and mechanical activities of the pregnant mouse myometrium. *Jap. J. Physiol.*, 21:607-625, 1971.
- Osa, T.: The effects of sodium, calcium and manganese on the electrical and mechanical activities of the myometrial smooth muscle of pregnant mouse. *Jap. J. Physiol.*, 23:113-133, 1973a.
- Osa, T.: Some factors affecting the contractile responses of pregnant mouse myometrium. *Jap. J. Physiol.*, 23:401-417, 1973b.
- Prosser, C.L.: Smooth muscle. *Ann. Rev. Physiol.*, 36:503-533, 1974.
- Reuter, H.: Divalent cations as charge carriers in excitable membranes. *Prog. Biophys. Mole. Biol.*, 26:1-43, 1973.
- Reuter, H. and Seitz, N.: The dependence of calcium efflux from cardiac muscle on temperature and external ion composition. *J. Physiol.*, 195:451-570, 1968.
- Sakamoto, Y. and Tomita, T.: Depolarization produced by Na-removal in the circular muscle of the guinea-pig stomach. *J. Physiol.*, 326:319-339, 1982.
- Tomita, T.: Electrical activity (spikes and slow waves) in gastrointestinal smooth muscles. In *Smooth Muscle: an assessment of current knowledge*. ed. Bülbbring, E., Brading, A.F., Jones, A.W., and Tomita, T., pp. 127-156. Edward Arnold, London, 1981.
- van Breemen, C., Aaronson, P., and Loutzenhiser, R.: Sodium-Calcium interactions in mammalian smooth muscle. *Pharmacol. Rev.*, 30:167-208, 1979.
- Vassort, G.: Voltage-clamp analysis of transmembrane ionic currents in guinea-pig myometrium: Evidence for an initial potassium activation triggered by calcium influx. *J. Physiol.*, 252:713-734, 1975.
- Vassort, G.: Ionic currents in longitudinal muscle of the uterus. In *smooth muscle: an assessment of current knowledge*, ed. Bülbbring, E., Brading, A.F., Jones, A.W. and Tomita, T., pp. 353-366. Edward Arnold, London, 1981.