

돼지 관상동맥에서 자외선 및 가시광선 유발 이완에 대한 Bay K 8644의 증강효과

전남대학교 의과대학 약리학교실, 내과학교실*

국 현 · 백영홍 · 강정채*

전북대학교 의과대학 약리학교실

채 수 완

= Abstract =

Potentiating Effects of Bay K 8644 on the Relaxation Induced by Ultraviolet or Visible Light in Porcine Coronary Artery

Hyun Kook, Yung Hong Baik, Jung Chae Kang *

Department of Pharmacology and Internal Medicine Chonnam University Medical School
Kwangju, Korea*

Soo Wan Chae

Department of Pharmacology, Chonbuk University Medical School, Chonju, Korea

Background : This study was aimed at defining the varying responses of porcine coronary artery(PCA) to various wavelengths of ultraviolet irradiation, and at relating them to the changes in cyclic GMP contents.

Methods : The ring preparations of PCA with intact or removed endothelium were irradiated with the ultraviolet or visible light of wavelengths(240 – 520nm) from xenon lamp of a spectrofluorometer, and the changes in vascular tension were recorded on polygraph. For cyclic GMP assay, rat thoracic aorta was frozen after irradiation and homogenated. The supernatant was extracted with water-saturated ether and the cyclic GMP contents were measured with radioimmunoassay.

Results : Ultraviolet irradiation relaxed the preparations(UVR-relaxation) in resting state and those precontracted by prostaglandin E_{20} , the maximal relaxation occurring at 410nm, and the magnitude depending on the duration of irradiation. The UVR-relaxation was not affected by removing the endothelium, while it was markedly potentiated by pretreatment with Bay K 8644. The Bay K 8644-induced potentiation of UVR-relaxation was abolished by hemoglobin and slightly reduced by wrapping the rings with aluminum foil. Cyclic GMP contents in the intact preparations were significantly increased by the irradiation of UVR of 410nm, and the increase was markedly potentiated by pretreatment with Bay K 8644.

Conclusion : These observations suggest that UVR-relaxation in porcine coronary artery is caused by activating the nitric oxide-cyclic GMP system, which is most sensitively activated by

UVR of 410nm and that its potentiation induced by Bay K 8644 may be related to nitrous substance released from the agent upon UVR.

KEY WORDS : Ultraviolet light · Porcine coronary artery · Vasodilatation · Bay K 8644

서 론

자외선은 가토 흉부대동맥¹⁻⁵⁾, 가토 폐동맥⁶⁾, 흰쥐 흉부대동맥⁷⁻⁹⁾, 소 장간동맥¹⁰⁻¹²⁾ 및 소 폐동맥¹³⁾ 등의 다양한 종류의 혈관평활근을 이완시킴이 알려져 있다. 이러한 자외선 유발 이완반응(자외선-이완반응)은 nitro화합물의 혈관 이완반응과 유사하고¹⁴⁾, guanylate cyclase억제제로 감약되고^{2,6,15)}, cyclic GMP phosphodiesterase 억제제인 M&B22,948에 의해 강화¹³⁾되는 것이 알려져 있다. 또한 자외선-이완반응은 쥐 흉부대동맥^{7,8)}과 가토흉부대동맥 및 폐동맥⁶⁾에서 dihydropyridine(DHP)계 calcium channel agonist에 의해 강화됨이 보고되었고 Trigle과 Bieger¹⁶⁾는 이와같은 강화작용은 세포의 calcium과 관련이 없고 DHP 분자구조 중의 NO₂나 =N-O-N=가 자외선에 의해 유리되어 guanylate cyclase를 활성화시킨 것이라 추론하였다.

기술한 자외선 조사 연구보고는 주로 그 파장이 360nm근처의 자외선만을 이용하여 실험하였기에 본 연구에서는 더 광범위한 자외선 파장과 가시광선 파장을 이용하여 이들의 조사가 혈관의 장력에 미치는 영향을 검토하고 더 나아가 Bay K 8644에 의한 여러 파장의 자외선-가시광선의 조사 효과를 관찰하기 위하여 시행하였다.

실험 방법

1. 표본조작과 장력변동실험

광주 근교의 도살장에서 돼지를 도살한 직후 돼지심장(n=60)을 구입하고 얼음상자에 담아 곧 실험실로 운반하고 저온상태(4~10℃)에서 우측 심방을 절단해 낸 후 우측 관상동맥을 절단적출하였다. 적출한 혈관은 약 4℃의 냉 생리식염수에 넣고 임체현미경하에서 주위조직을 제거한 후 4~5mm폭의 환상표본으로 만들고 각 표본에 한쌍의 stainless steel hook을 넣어 일측은 organ bath의 하단에 고정하고 반대측은 실로 묶어 isometric force transducer(Grass FT03)에 연결하여 그 장

력변동을 polygraph(Grass 7D)상에 기록하였다.

일부 표본에서는 철막대를 동맥환 가운데 넣어 부드럽게 2~3회 회전시켜 내피세포에 손상을 주어 내피세포 제거 동맥표본으로 사용하였다. 이때 내피세포의 존재여부는 histamine으로 수축시킨 후 calcium ionophore (A23187)를 투여하여 내피세포의존성 이완반응의 유무를 관찰하여 기능적으로 판정하였다.

2. 자외선-가시광선 조사실험

본 실험에 사용한 organ bath는 spectrofluorometer의 4면 투명 수정 cuvette(용량 4ml)을 사용하여 빛이 organ bath를 통과할 때 예측되는 유리의 굴절을 차이에 의한 간섭을 최소화하였다. 이 cuvette속에 기술한 방법으로 혈관표본을 매달고 cuvette을 고정하여 원하는 파장의 광선을 조사할 수 있도록 하였다. 본 실험에서는 240~400nm의 자외선과 400~520nm의 가시광선을 사용하였고, 따로 기술하지 않은 경우에는 240~520nm 파장의 광선을 '자외선-가시광선'으로 표기하였다. 광원으로는 150W의 xenon lamp를 가진 spectrofluorometer(Farrand R1 MK-2)를 사용하였고 cuvette 전면의 볼록렌즈로부터 lamp까지의 거리는 30cm이었으며 lamp로부터 조직까지의 거리는 4cm이었다.

일부 실험에서는 aluminum foil로 조직주위를 감싸 광선이 직접 표본에 조사되는 것을 차단한 후 실험하였다. 또한 굴절률이 일정하도록 수정을 고르게 깎아 만든 볼록렌즈(30 D.)를 spectrofluorometer의 slit 부위에 고정하여 조직이 볼록렌즈의 초점부위에 오도록 조절하였다(Fig. 1).

모든 실험은 외부 빛의 영향을 최소화하기 위하여 실험실 내외의 빛을 차단하고 실험실에 5W의 붉은 전구만을 켜 상태에서 수행하였고, 자외선-가시광선을 조사하고자 할 때에는 빛의 진행을 막고있던 cuvette 전면의 slit을 들어내어 조직에 조사되도록 하였다. 자외선-가시광선의 조사는 240nm부터 10~30nm의 파장 간격을 두고 실시하였고 한 파장에서 3분씩 조사하여 그 때의

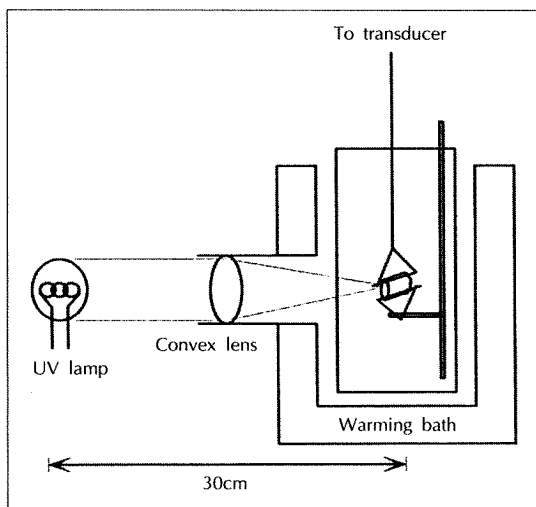


Fig. 1. The diagram of ultraviolet irradiation(UVR) system employed to observe the mechanical responses of the vascular preparations to UVR. A ring preparations was mounted in the cuvette. See text in details.

장력변화를 관찰하였다. 실험중 organ bath내의 영양액은 37℃가 되도록 조절하고 95% O₂와 5% CO₂의 혼합가스를 가는 needle(22G)을 통하여 공급하여 포화시킴으로써 pH 7.4를 유지하였다. 전 실험조작이 끝난 후 조직에 3g의 기본장력을 가하여 약 두시간동안 평형시켰다. 본 실험을 시작하기 전에 KCl 35mM을 2~3회 가하여 조직의 반응성을 관찰한 후 그 반응이 일정할 때 조사실험을 시작하였다. 한편 본 실험에서 실시한 자외선-가시광선의 조사는 organ bath내 영양액의 온도에 변화를 주지 못했다.

한편 붉은 색을 띠는 hemoglobin(Hb)을 사용한 경우 조직주위를 감싸는 붉은 색 자체가 광선의 진행을 억제 또는 간섭을 일으켜 다른 반응을 보이는지를 알아보기 위하여 두께가 얇은 수정 cuvette에 색깔이 있는 약물 농도와 같은 농도의 Hb를 넣어(filter-cuvette) lamp와 조직사이에 두고 조사하여 반응의 차이를 관찰하였다.

3. Cyclic GMP 측정실험

전항에서 기술한 장력실험을 수행하여 뚜렷한 장력변화가 관찰된 것과 같은 조건하에서 장력실험과 같은 실험을 실시한 후 조직내 cyclic GMP의 농도를 측정하였다. 조직을 cuvette내에 현수하여 특정 파장의 자외선 및 가시광선을 조사하고 액체질소로 냉각한, 끝에 구리

판이 붙어있는 핀셋을 이용하여 조직을 얼린 다음 곧은 박지로 싸서 -80℃의 냉동고에 보관하였다. Cyclic GMP 측정은 각 표본을 4℃의 10% trichloroacetic acid(TCA) 용액 1ml가 들어있는 homogenize용 glass tube에 넣고 glass pestle을 사용하여 4,000 RPM으로 약 1분간 homogenize한 다음, 4℃, 2,500×g에서 30분간 원심시켰다. 원심 후 얻은 상청액은 water-saturated ether 4ml로 추출(extract)하고 ether phase를 버리는 과정을 4회 반복한 후 hood내에서 두시간동안 실온에 방치하여 나머지 ether를 증발시킨 후 그 추출액 100μl를 직접 radioimmunoassay에 사용하였다. 또한 원심 후 얻은 pellet은 BCA법으로 단백질량에 사용하였다. Cyclic GMP의 측정은 [¹²⁵I] radioimmunoassay kit(DuPont)를 사용하여 "acetylated radioimmunoassay protocol"에 따라 시행하여 fmol/mg protein으로 계산한 후 control에 대한 % change로 환산하여 표기하였다.

4. 사용된 영양액, 약물 및 통계처리

본 실험에서 사용된 생리적 영양액의 조성은 NaCl, 126.9; KCl, 4.7; CaCl₂, 1.6; MgSO₄, 1.17; KH₂PO₄, 1.18; NaHCO₃, 18.0 및 glucose, 5.5mM이었다. 사용된 약물은 hemoglobin(Hb)은 Sigma사에서, Bay K 8644(1,4-dihydro-2,6-dimethyl-5-nitro-4-[2-(trifluoromethyl)-phenyl]-3-pyridinecarboxylic acid methyl ester)는 RBI사에서, BCA 단백질량 kit는 BioRad에서 구입하였다.

실험결과는 각 실험군에서의 값은 평균 ± 표준오차(mean ± SEM)로 표시하였으며 통계학적인 유의성 검정에는 unpaired Student's t-test를 사용하여 각 군간의 p < 0.05를 유의한 차이로 기술하였다.

실험성적

1. 기본장력에 대한 자외선-가시광선의 효과

기본장력하에서 240~520nm의 자외선-가시광선을 표본에 조사하였다. 240부터 300nm까지의 자외선 조사로는 뚜렷한 장력변화가 관찰되지 않았으나 310nm부터는 조사시작 약 5~7초 후부터 이완되기 시작하여 1~3분에 최고 이완에 도달하였고 이러한 이완반응은 자외선의 한계 파장부근인 410nm에서 $0.33 \pm 0.06g(n=5)$

의 최대이완반응을 일으켰다. 또한 조사시간에 비례하여 그 이완반응의 크기는 증가되었으며 조사중단과 동시에 곧 원수준으로 회복되었다. 이후 가시광선 파장인 420nm부터는 그 이완반응의 크기가 점차 감소되었고 480nm까지는 유의한 이완반응이 나타났으나 그 이상의 파장에서는 뚜렷한 이완반응을 관찰할 수 없었다. 즉 유의한 이완반응을 일으킨 파장의 범위는 310~480nm였다(Fig. 2).

한편 내피제거 표본에서도 자외선-가시광선은 조사 시간에 비례하는 이완반응을 일으켜 내피존재표본과 비슷한 양상을 보였다. 그러나 유의한 이완반응을 보인 최단파장은 340, 최장파장은 420nm로서 내피존재표본에서 유의한 이완반응을 보인 310~480nm보다 그 범위가 좁아졌고 전반적으로 그 이완정도가 적었으며 410nm에서 최대이완정도는 0.20 ± 0.06 (n=5)으로 내피세포 존재표본에서의 이완보다는 적은 경향을 보였다(Fig. 2).

2. PGF_{2α}-수축 표본에 대한 자외선-가시광선의 효과

내피존재 표본에서 10^{-6} M PGF_{2α}는 2.18 ± 0.80 g(n=4)의 지속적인 수축을 일으켰고 이때의 자외선-가시광선의 조사 역시 기본장력하의 이완반응과 유사한 이완반응을 일으켰으며 유의한 이완반응을 일으킨 파장의 범위는 320~460nm였고 최고 이완은 410nm에서 0.19 ± 0.06 g이었다. PGF_{2α}-수축표본의 이완반응은 기본장

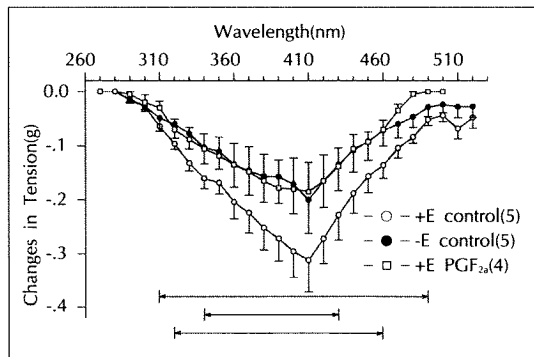


Fig. 2. Responses of the porcine coronary arteries in resting state or those precontracted by 10^{-6} M PGF_{2α} to irradiation of UVR ranging from 260 to 520nm. '+E' represents the endothelium-intact preparations, while '-E' means the endothelium-removed (denuded) ones. Arrows indicate the ranges of vasodilation with significance (* < 0.05). Each dot represents mean \pm SEM. Numbers of preparations were given in parentheses.

력의 내피존재 표본에서의 이완보다 적은 경향을 보였고 내피제거 표본의 이완반응과는 비슷하였다(Fig. 2). 한편 이와 같은 광선 조사가 짧은 파장인 240nm부터 시작하여 긴 파장인 520nm까지 조사할 때와, 반대로 520nm부터 240nm까지 조사할 때 그 반응양상에 차이가 있는지 관찰하였으나 그 이완정도 및 최고 이완반응을 보이는 파장에 차이가 없었다.

3. Bay K 8644-수축 표본에 대한 자외선-가시광선조사의 효과

내피존재 표본은 calcium channel agonist인 Bay K 8644 10^{-7} M^{17,18,19)}을 가하면 서서히 수축이 일어나 약 60분 후에는 0.73 ± 0.18 g(n=8) 정도로 수축되어 지속되었다. 이때 자외선-가시광선을 조사하면 기본장력하의 이완반응과 유사하였으나 전 파장에서 그 이완정도는 더 현저하였다. 또한 이완반응을 보이는 최단 파장은 280nm, 최장파장은 510nm로 대조군의 310~480nm보다 더 넓어졌다. 370nm부터는 Bay K 8644 수축전의 기본장력이하로 이완되어 410nm에서 최대 이완반응(1.14 ± 0.08 g, n=8)을 일으켜 기본장력하에서 최대 이완보다 유의하게 강화되었다(p < 0.01). 410nm이상의 파장에서는 그 이완반응이 차츰 감소되어 490nm이상의 조사는 대조군과 차이가 없었다. 또한 내피제거표본 역시 동량의 Bay K 8644수축 후의 자외선-가시광선 조사로 이완반응을 보였으며 최고 이완반응을 일으키는 파장이 400nm로 내피존재의 410nm와 약간의 차이를 보였을 뿐 그 이완반응의 정도는 내피존재의 경우에 비해 뚜렷한 차이가 관찰되지 않았다(Fig. 3).

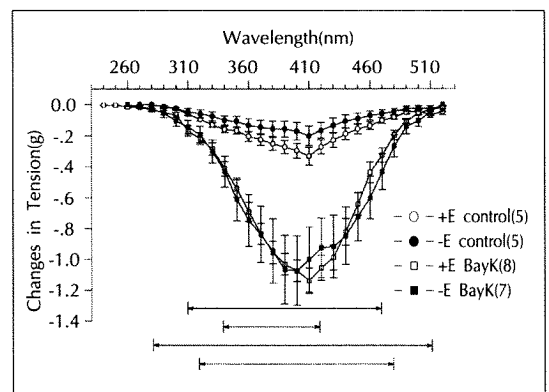


Fig. 3. Potentiation of UVR-relaxation of porcine coronary artery by 10^{-7} M Bay K 8644(BayK). Other legends are the same as in Fig. 2.

한편 내피존제 표본에서 10^{-7} M의 Bay K 8644로 수축시킨 후 410nm의 자외선을 10초에서 900초까지 1.5배씩 조사시간을 증가시켜 조사한 결과 조사시간에 비례하는 이완반응을 일으켰다(Fig. 4).

4. Bay K 8644-수축 표본에서 자외선-가시광선 간접조사의 효과

자외선-가시광선 조사로 인한 혈관이완반응의 강화 효과가 Bay K 8644에서 유리되는 어떤 물질에 의한 반응인지, 조직자체의 어떤 변화에 기인한 반응인지를 구별하기 위하여 내피존제 돼지 관상동맥표본을 aluminum foil조각으로 감싼 후 10^{-7} M의 Bay K 8644로 수축시키고 290~500nm파장의 광선을 30nm간격으로 증가시키면서 조사하였다. 조직에의 직접적인 조사가 아님에도 불구하고 410nm파장의 조사로 0.52 ± 0.05 g (n=5)의 최대이완을 일으켜 Bay K 8644처리하지 않은 후의 이완, 즉 0.33 ± 0.06 g(n=5)보다 더 현저하였으나($p < 0.05$) Fig. 5에서 보는 바와 같이 foil을 씌우지 않은 대조군에 비해서는 유의하게 감소되었다($p < 0.01$). 한편 Bay K 8644를 전처리하지 않은 기본장력의 돼지관상동맥 표본에서 aluminum foil 조각으로 조직편을 감싼 후 410nm파장의 광선을 조사할 때에는 이완반응이 전혀 관찰되지 않았다(n=4).

5. Bay K 8644-수축표본의 자외선-가시광선 유발 이완반응에 대한 Hb의 효과

자외선 조사에 nitric oxide(NO)의 관여 여부를 알아보기 위하여 10^{-5} M Hb를 첨가한 후 자외선-가시광선

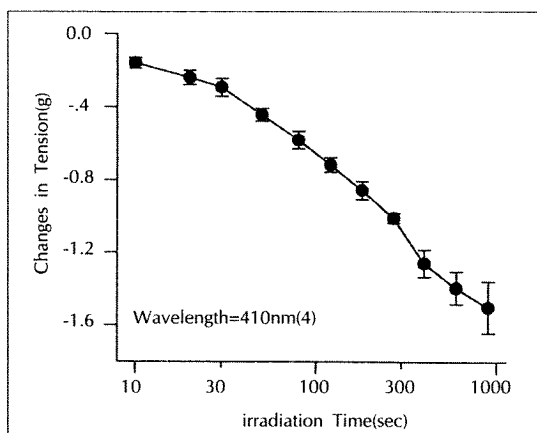


Fig. 4. The UVR-relaxation of as related to the duration of irradiation. The porcine coronary artery was pre-treated by 10^{-7} M Bay K 8644. Others are in Fig. 2

을 조사한 결과 전 파장에서의 이완반응이 거의 소실되었다($p < 0.01$, n=4, Fig. 5). 한편 Hb의 약물자체 효과가 아니라 Hb의 색소가 광선의 진행에 영향을 미침으로써 자외선 유발 이완반응을 감소시켰는지 알아보기 위하여 실험방법에서 기술한 바와 같이 filter-cuvette에 같은 농도의 Hb를 넣은 후 410nm의 자외선을 조사하였으나 대조이완과 유사한 정도의 이완반응(0.96 ± 0.12 g, n=3)을 관찰할 수 있었다.

6. Cyclic GMP 농도에 대한 Bay K 8644의 효과

자외선 조사에 의한 혈관조직내 cyclic GMP 농도의 변화를 알아보기 위하여 경미한 이완반응을 보였던 310nm와 가장 큰 이완을 보였던 410nm파장의 자외선을 1분간 조사한 후 혈관조직내 cyclic GMP의 농도를 측정된 결과 조사 전 농도보다 $157 \pm 54\%$ 및 $258 \pm 63\%$ (n=4)만큼 유의있게 증가되었으나 두 파장간에는 410nm에서 310nm보다 더 증가된 경향을 보일 뿐 유의성은 없었다(Fig. 6).

또한 Bay K 8644가 자외선 유발 이완반응을 강화시키는 데 cyclic GMP가 관여되는가를 알아보기 위하여 10^{-7} M Bay K 8644를 전처리한 50분 후 cyclic GMP 농도를 관찰하고 동량의 Bay K 8644 존재하에서 310nm 및 410nm의 자외선을 조사하여 cyclic GMP의 농도변화를 관찰하였다. Bay K 8644전처리후에는 $36 \pm 33\%$ 의 증가를 보여 투여전의 cyclic GMP농도와는 유의한 차이가 없었으나 Bay K 8644전처리후 자외선을 조사하면 310nm와 410nm에서 $448 \pm 54\%$ 및 $599 \pm 75\%$ 로 그 대조치보다 각각 약 4.5배, 6배 증가하였고

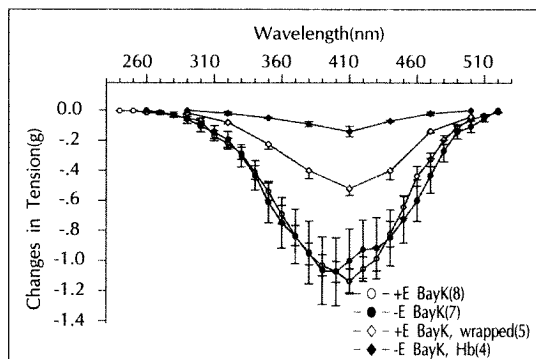


Fig. 5. Effects of pretreatment with hemoglobin(Hb) on the UVR-relaxation. Open diamonds show the UVR-induced responses of the +E artery wrapped with aluminum foil. Others are in Fig. 2.

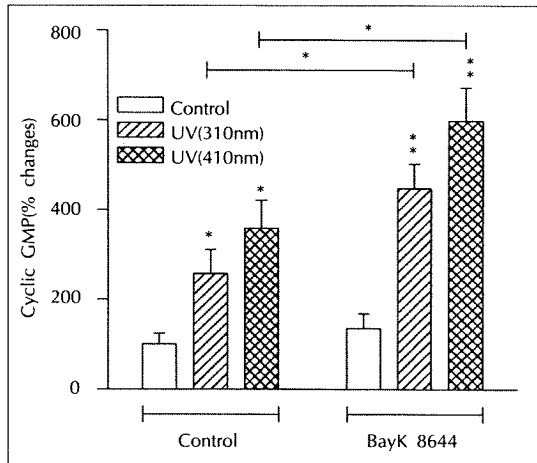


Fig. 6. Changes of cyclic GMP concentrations induced by UVR in the preparations of porcine coronary artery. Irradiation was done for 1 min at 310 or 410nm. Left three columns were obtained from the preparations without any pretreatment, while right three were obtained from those pretreated with 10^{-6} M Bay K 8644. Each bar represents the mean \pm SEM from 4 experiments. Asterisks indicate significant differences from their controls(* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$).

Bay K 8644를 투여하지 않고 자외선만 조사한 경우의 cyclic GMP치보다도 유의하게 증가되었다($p < 0.05$, $n=4$). 그러나 두 파장간에는 유의한 차이가 없었다 (Fig. 6).

고 안

돼지 적출관상동맥 표본에 자외선(240~400nm) 및 가시광선(400~520nm)을 조사하면 일정 범위의 파장 내에서 이완반응이 나타났다. 기본장력하의 내피존제 표본에서 그 이완반응은 310nm이상의 파장에서부터 나타나기 시작하여 파장의 길이를 10nm씩 증가시키기에 따라 증대되었고, 410nm에서 최대 이완반응을 일으킨후 파장의 길이를 더욱 증가시키면 이완반응은 점차 감소되어 490nm 이상에서는 기본 장력으로 회복되었다. 즉 이완반응 파장범위(이완반응을 일으키는 최단 파장부터 최장 파장까지)는 310~480nm였다. 한편 기본장력하에서 aluminum foil로 조직을 감싸고 자외선-가시광선을 조사하면 전 파장에서 이완반응이 관찰되지 않았고 따라서 자외선-가시광선 유발 이완반응은 빛이 표본에 들어 있는 영양액에 어떤 영향을 미친데 기인한 것이 아

니고 혈관조직 중 빛에 민감한 어떤 구조에 직접적 영향을 미친데 기인한 것으로 생각된다.

Photobiologic action spectrum은 290~400nm의 자외선과 400~700nm의 가시광선이며 인체 피부에 발적등을 일으키는 spectrum은 290~320nm의 자외선으로 이 파장을 UV-B 또는 "sunburn spectrum"이라고 하며, 10~290nm는 UV-C, 320~400nm는 UV-A라 한다.^{20,21}. 본 실험의 혈관 이완반응은 UV-C에서는 나타나지 않았고 최대 이완반응은 UV-A에 속하는 400nm 파장 부근에서 나타났으며 400~500nm의 가시광선에서도 이완반응이 나타났다. 짧은 파장의 자외선(~250nm)이 5cm 두께의 물을 통과할 때 빛의 흡수율이 15% 이하이고 그보다 긴 파장일수록 투과성이 강하며 390nm 이상의 자외선은眞皮에까지 도달하지만 300nm 이하는 표피 투과가 어렵다.²². 본 실험에서 광선이 영양액을 투과하여 조직에 도달하는 거리 즉 물을 통과하는 거리가 1cm 이하인 점으로 미루어 300nm 이하에서 이완반응이 나타나지 않은 것은 수분의 자외선흡수 때문이 아니고, 이러한 짧은 파장 부근의 자외선이 혈관조직을 투과하지 못한 때문으로 생각된다. 본 실험에서 분명한 점은 자외선이 혈관 이완반응을 일으키기 위해서는 혈관벽을 투과해야 할 것이며, 310nm이상의 파장에서부터 파장 증가 즉 피부 투과성증가에 일치하여 이완반응이 증대되고 진피 투과성이 큰 390nm 이상의 파장 즉 410nm에서 최대 이완반응이 나타난 점은 조직 투과성과 자외선 유발반응과의 상관관계를 시사하는 성적이다. 그러나 투과성이 크더라도 500nm 이상의 가시광선은 이완반응을 일으키지 못하였고 따라서 혈관의 긴장도에 영향을 미칠 수 있는 광선은 위의 photobiologic action spectrum 내의 비교적 긴 파장(300nm 이상)의 자외선과 자외선 파장에 가까운 짧은 파장(500nm 이하)의 가시광선이다.

기본장력하의 내피존제 표본에서 자외선-가시광선의 조사로 유발되는 이완반응은 내피제거, $\text{PGF}_{2\alpha}$ 및 Bay K 8644 처리 표본 등에서 차이를 보였다. 즉 내피제거 또는 내피존제 $\text{PGF}_{2\alpha}$ 수축표본에서는 이완반응이 감압되었으나 Bay K 8644 수축표본에서는 내피존제 유·무에 관계없이 강화되어 나타났다. 또한 이완반응 파장범위는 기본장력하의 내피존제 표본에서 310~480nm였고 내피제거 표본에서는 340~420nm로, $\text{PGF}_{2\alpha}$ 로 수축시킨 내피존제 표본에서는 320~460nm로 좁아졌으나

Bay K 8644로 수축시킨 표본에서는 내피존제 및 제거 표본에서 각각 280~510nm과 320~480nm로 넓어졌다. 이 성적은 표본의 빛에 대한 예민도를 내피제거와 PGF_{2α} 처리는 감소시키나 Bay K 8644 처리는 증가시킴을 시사하고 있다. 한편 최대 이완반응이 나타난 파장은 Bay K 8644로 수축시킨 표본에서는 400nm였고 그 외 표본에서는 모두 410nm에서 나타나 뚜렷한 차이가 없었다.

자외선유발 이완반응은 가토 및 흰쥐 흉부대동맥, 소장간막 동맥과 폐동맥 등에서 혈관수축제로 수축시킨 상태에 자외선(주로 350~370nm 파장을 사용)을 조사할 때 나타나고 내피존제 여부와 무관하게 나타난다¹⁻⁵⁾. 한편 본 교실에서는 365nm의 자외선 조사가 기본장력하의 흰쥐 흉부 대동맥 표본에 아무 영향도 미치지 못함을 보고한 바 있다²⁹⁾. 이와 같은 보고들은 자외선 유발 이완반응이 기본장력하에서는 나타나지 않고 내피제거로 영향 받지 않음을 제시하고 있으나, 본 실험의 돼지 관상동맥에서는 이완반응이 나타나고 내피제거로 그 반응이 감약된 점, 그리고 자외선 뿐 아니라 짧은 파장의 가시광선 조사로도 이완반응이 나타난 점 등은 새로운 사실로서 돼지 관상동맥이 다른 혈관보다 빛에 민감하여 부분적으로 내피세포에 의존적임을 시사하고 있다.

여러 혈관수축물질이 혈관을 수축시키는 과정에 동시에 내피세포로부터 혈관 이완물질인 endothelium-derived relaxing factor(EDRF)가 유리되어 guanylate cyclase 활성을 증가시킴이 알려져 있다^{24,25)}.

또한 자외선 유발이완반응은 자외선이 혈관조직내 guanylate cyclase 활성을 증가시켜 조직내 cyclic GMP를 증가시킨데 기인한 것으로 알려져 있다^{6,10,11,13,15)}. 본 실험의 내피존제 표본에서도 PGF_{2α} 수축시 내피세포로부터 EDRF가 유리되어 그 수축반응을 억제할 것이고 이 상태에서 자외선을 조사하면 EDRF에 의한 guanylate cyclase계 활성화 작용과 자외선에 의한 guanylate cyclase계 활성화 작용이 중복됨으로써 자외선 유발 이완반응이 약화된 것으로 추측된다.

Dihydropyridine계 Ca²⁺ channel agonist인, Bay K 8644와 (+)-S-202-791 및 길항제인 nifedipine과 nicardipine 등의 처리 후 자외선 유발 이완반응이 증강되고^{16,26-28)}, 이는 그 구조식 중에 존재하는 -NO 또는 -NO₂기가 자외선 조사로 분리되어(photodecomposition) NO 상태로 유리됨으로써 이완반응이 강화된다고

한다^{9,29)}.

본 실험에서도 기본장력하의 자외선-가시광선 유발 이완반응보다 Bay K 8644 수축표본에서 내피존제 유무에 관계없이 이완반응이 강화되었다. 또한 조직을 aluminum foil로 감싸 조직에 광선이 직접 조사되지 않게한 표본에서 조직 주위에 영양액에 빛을 조사한 경우에 기본 장력하의 표본에서는 이완반응이 나타나지 않았으나, Bay K 8644로 수축시킨 수축 표본에서는 foil로 감싸지 않은 Bay K 8644처리군보다 현저하게 감약은 되었으나 뚜렷한 이완반응이 나타났고 Bay K 8644 처리군에서 증강되었던 자외선-가시광선 유발 이완반응은 NO-guanylate cyclase계에 억제적으로 작용하는 Hb²⁷⁾ 처리 후 소실되었다. 이 성적은 자외선-가시광선 유발 이완반응과 Bay K 8644 및 NO-guanylate cyclase계 간에 밀접한 관련이 있음을 가리키고 있다.

Guanylate cyclase는 조직내 heme기에 결합될 때 NO 또는 nitroso compounds에 의해 활성화되고³⁰⁾, 자외선 유발 이완반응은 heme기의 ferrous form과 직접적인 관련이 있고³¹⁾, 최대 이완반응을 보이는 자외선의 파장이 guanylate cyclase의 heme기의 porphyrin이 갖는 maximal absorbtion과 일치한다는 보고¹⁰⁾, 빛에 의해서 물이 photolysis되어 생기는 O₂³²⁾가 NO를 파괴시킴으로 이러한 O₂를 제거해 주는 superoxide dismutase, KCN, dimethylsulfoxide등에 의해 자외선 유발 이완반응이 강화된다는 보고^{31,33)} 및 streptozotocin은 자외선(300~420nm) 조사로 photodecomposition되어 NO/nitrite를 유리시킨다는 보고³⁴⁾ 등은 자외선 유발 이완반응과 NO-guanylate cyclase계 간에 밀접한 관계가 있음을 시사하고 있다. 또한 조직내 cyclic GMP 농도를 측정 한 실험에서 cyclic GMP 농도는 310 및 410nm 조사로 증가하였고, Bay K 8644 처리 자체는 그 농도에 변화를 일으키지 못하였으나 여기에 410nm를 조사하면 조직내 cyclic GMP 농도는 더욱 증가하였고 이 성적 역시 자외선-가시광선 유발 이완반응과 Bay K 8644 및 NO-guanylate cyclase계 간에 밀접한 관계가 있다는 위의 가설을 뒷받침하고 있다.

요 약

연구배경 :

이 실험은 여러 파장(240~520nm)의 자외선-가시

광선을 돼지 관상동맥에 조사하여 이때의 파장에 따른 혈관장력반응의 변화를 관찰하고 조직내 cyclic GMP농도의 변화와의 연관성을 규명하고자 하였다.

방 법 :

돼지관상동맥의 환상표본에 spectrofluorometer의 xenon lamp를 이용하여 여러 파장의 자외선-가시광선을 조사하고 이때의 장력변동을 polygraph상에 기록하였다. Cyclic GMP 농도변화는 표본에 자외선을 조사한 직후 조직을 얼리고 homogenization 및 원침시킨 후 상청액을 ether로 추출하여 RIA kit로 측정하였다.

결 과 :

자외선-가시광선은 기본장력 상태의 표본 및 PGF_{2α} 수축표본을 이완시켰고, 최대 이완반응은 410nm에서 관찰되었으며, 이완반응은 광선의 조사시간에 비례하여 증가하였다. 자외선-가시광선에 의한 이완반응은 내피 제거에 의해서는 뚜렷한 영향을 받지 않았고 Bay K 8644치리로 증강되었다. 이 Bay K 8644에 의한 이완반응강화는 hemoglobin(Hb) 치리로 소실되었고 aluminum foil로 조직을 감싸고 조사하면 완전히 소실되지는 않고 감약되어 나타났다. 조직내 cyclic GMP치는 410nm 광선의 1분간 조사로 유의있게 증가되었고 이 cyclic GMP의 증가 역시 Bay K 8644전치치로 현저히 강화되었다.

결 론 :

이상의 성적으로부터 자외선 유발 이완반응이 guanylate cyclase활성화를 통한 것이며 guanylate cyclase는 410nm의 자외선 파장에서 가장 예민하게 활성됨을 알 수 있었다. 또한 Bay K 8644존재지 자외선-가시광선을 조사하면 혈관이완반응이 강화되나 이때 Bay K 8644로부터 유리된 NO등의 물질도 이완반응에 일부 관여함을 추론하였다.

■ 감사의 글

본 연구논문은 '94년도 대한의학협회 기초의학진흥기금의 지원보조금으로 이루어졌음.

References

- 1) Furchgott RF, Sleator W Jr, McCaman MW, Elchlepp J : *Relaxation of arterial strips by light and the influence of drugs on this photodynamic effect. J*

Pharmacol Exp Ther 113 : 22-23, 1955

- 2) Furchgott RF, Martin W, Jothianandan D, Villani GM : *Comparison of Endothelium-dependent Relaxation by Acetylcholine and Endothelium-independent Relaxation by Light in the Rabbit Aorta. In* : Paton W, Mitchell J, Turner P, eds. *Proceedings IUPHAR 9th International Congress of Pharmacology, vol. 1. Basingstoke : Macmillan, 149-157, 1984*
- 3) Raffa RB, Robinson MJ, Tallarida RJ : *Ultraviolet light-induced photorelaxation of agonist-contracted rabbit aorta : further characterization and the estimation of drug-receptor rate constants. Drug Dev Res* 5 : 359-369, 1985
- 4) Raffa RB, Aceto JF, Goldschmidt JE, Tallarida RJ : *The effect of lowered extracellular Na⁺ concentration on ultraviolet light-induced relaxation of vasoconstricted rabbit isolated thoracic aorta. Life Sci* 51 : 249-254, 1992
- 5) Steg PG, Rongione J, Gal D, DeJesus ST, Clarke RH, Isner JM : *Pulsed ultraviolet laser irradiation produces endothelium-independent relaxation of vascular smooth muscle. Circulation* 79 : 189-197, 1989
- 6) Chen X, Gills CN : *Enhanced photorelaxation in aorta, pulmonary artery and corpus cavernosum produced by Bay K 8644 or N-nitro-L-arginine. Biochem Biophys Res Commun* 186 : 1522-1527, 1992
- 7) Mikkelsen E, Kazda S, and Nyborg NCB : *Effects of light and Bay K 8644, a new 1,4-dihydropyridine, on mechanical responses of rat thoracic aorta. Acta Pharmacol Toxicol* 56 : 126-132, 1985
- 8) Mikkelsen E, Nyborg NCB : *Comparison of the effects of the vasoconstrictive dihydropyridines Bay K 8644 and CGP 28392 on isolated rat aorta : different sensitivities to ultraviolet radiation. J Cardiovasc Pharmacol* 8 : 476-482, 1985
- 9) Chang KC, Chong WS, park BW : *NO- and NO₂-carrying molecules potentiate photorelaxation in rat trachea and aorta. Biochem Biophys Res Commun* 191 : 509-514, 1993
- 10) Karlsson JOG, Axelsson RGG, Andersson RGG : *Effects of ultraviolet radiation on the tension and the cyclic GMP level of bovine mesenteric arteries. Life Sci* 34 : 1555-1563, 1984
- 11) Karlsson JOG, Axelsson RGG, Elwing H, Andersson RGG : *Action spectra of photoactivated cyclic GMP metabolism and relaxation of bovine mesenteric*

- artery. *J Cyclic Nucleotide Prot phosphor Res* 11 : 155-166, 1986
- 12) Wigilius IM, Axelsson KL, Andersson RGG, Karlsson JOG, Odman S : Effects of sodium nitrite on ultraviolet light-induced relaxation and ultraviolet light-dependent activation of guanylate cyclase in bovine mesenteric arteries. *Biochem Biophys Res Comm* 169 : 129-135, 1990
- 13) Wolin MS, Omar HA, Mortelliti MP, Cherry PD : Association of pulmonary artery photorelaxation with H_2O_2 metabolism by catalase. *Am J Physiol* 261 : H 1141-1147, 1991
- 14) Furchgott RF : Effects of various agents on photorelaxation of rabbit aorta strips. In *Physiology and Pharmacology of Vascular Neuroeffector Systems*. Baven JA, Furchgott RF, Maxwell RF, Somylo AP, eds. p247-62, Basel : Karger, 1971
- 15) Matsunaga K and Furchgott RF : Interactions of light and sodium nitrite in producing relaxation of rabbit aorta. *J Pharmacol Exp Ther* 248 : 687-695, 1989
- 16) Triggie CR, Bieger D : Can dihydropyridines enhance photorelaxation of smooth muscle by calcium-independent mechanisms? *Proc West Pharmacol Soc* 33 : 227-233, 1990
- 17) Chen X, Gillis CN : Enhanced photorelaxation in aorta, pulmonary artery and corpus cavernosum produced by Bay K 8644 or N-nitro-L-arginine. *Biochem Biophys Res Commun* 186 : 1522-1527, 1992
- 18) Nordberg LO, Raffa RB, Tallarida RJ : Determination of the drug-receptor dissociation constant of endothelin-1 using photorelaxation of rabbit isolated thoracic aorta. *Life Sci* 53 : PL33-38, 1993
- 19) Mikkelsen E, Nyborg NCB : Comparison of the effects of the vasoconstrictive dihydropyridines Bay K 8644 and CGP 28392 on isolated rat aorta : different sensitivities to ultraviolet radiation. *J Cardiovasc Pharmacol* 8 : 476-482, 1985
- 20) Frain-Bell W : *Cutaneous Photobiology*. Oxford, Oxford University Press. 1985
- 21) Peak MJ, Peak JG, Kochevar IE : Solar Ultraviolet Effects on Mammalian Cell DNA. In *Oxydative Stress in Dermatology*. Fuchs J and Packer L, p169-186,, New York, Marcel Dekker Inc, 1993
- 22) Daniels F Jr, Johnson BE : *Normal, Physiologic, and Pathologic Effects of Solar Radiation On The Skin*. In *Sunlight and Man*. Fitzpatrick TB, Pathak MA, Harber LC, Seiji M, Kukita A, p117-130, Tokyo, University of Tokyo Press, 1977
- 23) Baik YH, Kang SD, Kang JC : Contractile effects of ultraviolet light on isolated thoracic aortae of rats. *Kor J Pharmacol* 29 : 65-72, 1993
- 24) Furchgott RF : Role of endothelium in responses of vascular smooth muscle. *Circ Res* 53 : 557-573, 1983
- 25) Williams JS, Baik YH, Kock WJ, Schwartz A : A possible role for the endothelium in porcine coronary smooth muscle responses to dihydropyridine calcium channel modulators. *J Pharmacol Exp Ther* 241 : 379-386, 1987
- 26) Nordberg LO, Raffa RB, Tallarida RJ : Determination of the drug-receptor dissociation constant of endothelin-1 using photorelaxation of rabbit isolated thoracic aorta. *Life Sci* 53 : PL33-38, 1993
- 27) Baik YH, Dube GP, Vaghy P, Rapoport R, Schwartz A : Modification of effects of the enantiomers of a 1,4-dihydropyridine(202-791) by endothelium and light in pig coronary artery. *Pharmacologist* 72 : 267, 1985
- 28) Baik YH, French JF, Schwartz A, Rapoport R : Dihydropyridine Ca^{2+} channel agonists and antagonists potentiate ultraviolet light-induced relaxation through cyclic GMP formation in porcine coronary artery. *J Cardiovas Pharmacol* 23 : 785-791, 1994
- 29) Feelisch M, Noack EA : Correlation between nitric oxide formation during degradation of organic nitrates and activation of guanylate cyclase. *Eur J Pharmacol* 139 : 19-30, 1987
- 30) Ignarro LJ, Degnan JN, Baricos WH, Kadowitz PJ, Wolin MS : Activation of purified guanylate cyclase by nitric oxide requires heme : comparison of heme-deficient, heme-reconstituted and heme-containing forms of soluble enzyme from bovine lung. *Biochim Biophys Acta* 718 : 49-59, 1982
- 31) Karlsson JOG, Axelsson K, Andersson RGG : Effects of hydroxyl radical scavengers KCN and CO on ultraviolet light-induced activation of crude soluble guanylate cyclase. *J Cyclic Nucleotide Prot Phosphor Res* 10 : 309-315, 1985
- 32) McCord JM, Fridovich I : Production of O_2^- in photolyzed water demonstrated through the use of superoxide dismutase. *Photochem Photobiol* 17 : 115-121, 1973

- 33) Matsunaga K, Furchgott RF : *Responses of rabbit aorta to nitric oxide and superoxide generated by ultraviolet irradiation of solutions containing inorganic nitrite. J Pharmacol Exp Ther* 259 : 1140-1146, 1991
- 34) Kwon NS, Lee SH, Choi CS, Kho T, Lee HS : *Nitric oxide generation from streptozotocin. FASEB J* 8 : 529-533