

## Vanadate가 혈관 평활근의 수축력에 미치는 영향\*

연세대학교 의과대학 생리학교실

아주대학교 의과대학 생리학교실\*

윤용광 · 문창현\* · 이영호 · 강복순 · 강두희

= Abstract =

### Effect of Sodium Vanadate on Contractility of Vascular Smooth Muscle

Young Kwang Yoon, M.D., Chang Hyun Moon, M.D.,\* Young Ho Lee,  
Bok Soon Kang, M.D., Doo Hee Kang, M.D.

*Department of Physiology, Yonsei University, College of Medicine, Seoul, Korea*

*Department of Physiology, Ajou University, College of Medicine, Seoul, Korea\**

The present study was intended to examine the effect of sodium vanadate on contractility of vascular smooth muscle. Aortic ring preparations were made from the rabbit thoracic aorta and endothelial cells were removed from the ring. The contractility of the aortic ring was measured under various conditions.

The results were summarized as follows :

- 1) Sodium vanadate induced contractions of vascular smooth muscle in a dose-dependent fashion.
- 2) The contractile effects were not blocked by treatments with adrenergic blocking agent (phentolamine) and indomethacin, indicating the direct action of the drug on vascular smooth muscles.
- 3) In the presence of ouabain,  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$  inhibitor, sodium vanadate still increased the contractility of vascular smooth muscle.
- 4) Treatment with 4,4' - diisothiocyanostilbene - 2,2' - disulfonic acid (DIDS) blocked completely the contractile effects of sodium vanadate.
- 5) In the presence of verapamil, lanthanum and ryanodine, the contractility of the vascular smooth muscle by sodium vanadate was decreased.

From the above results, it was suggested that sodium vanadate acts directly on vascular smooth muscle and causes contraction. It was probably due to inhibition of  $\text{Ca}^{++} - \text{ATPase}$  in plasma membrane as well as increasing the release of  $\text{Ca}^{++}$  from sarcoplasmic reticulum and  $\text{Ca}^{++}$  influx across the plasma membrane, but not inhibition of  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ .

**KEY WORDS :** Vanadate · Vascular smooth muscle · Contractility.

---

\*이 연구는 과별 Project 연구비(1992년)로 이루어졌음.

## 서 론

혈관 평활근의 수축력의 크기는 세포내 유리  $\text{Ca}^{++}$  농도에 의해 커다란 영향을 받게되는데<sup>1)</sup>, 이같은 유리  $\text{Ca}^{++}$  농도는 주로  $\text{Ca}^{++}$ 의 유입과 유출 사이의 균형에 의해 결정되게 된다<sup>2,3,4,5)</sup>. 세포내로의  $\text{Ca}^{++}$  유입은 주로 receptor 및 voltage-operated  $\text{Ca}^{++}$  channel 과  $\text{Na}^{+}-\text{Ca}^{++}$  exchange process를 통해 이루어지게 되고, 세포밖으로의  $\text{Ca}^{++}$  유출은 혈관 평활근 세포막의  $\text{Ca}^{++}-\text{ATPase}$ 와  $\text{Na}^{+}-\text{Ca}^{++}$  exchange process를 통해 일어나게 된다<sup>6,7,8,9,10)</sup>. 따라서  $\text{Ca}^{++}$  유입 및 유출 통로에 영향을 미치는 인자들에 의해 세포내 유리  $\text{Ca}^{++}$  농도가 변화하게 되고, 이에 따라 혈관 평활근의 수축 정도가 변화하게 된다<sup>9,10,41)</sup>.

한편  $\text{Na}^{+}-\text{K}^{+}-\text{ATPase}$ 의 억제제로서<sup>12,13,14)</sup> 처음 알려진 vanadate는 생체 조직에 미량으로 분포되어 있는 물질로서<sup>15)</sup> 인체 내 여러 부위에서 다양한 생리, 생화학적 효과를 나타냄이 많은 연구자들에 의해 보고되었다<sup>16)</sup>. 특히 혈관 평활근의 경우 그의 수축력에 vanadate가 커다란 영향을 끼침이 보고되었다<sup>17)</sup>. 즉 실험동물에 vanadate를 정맥 주사시 급격한 동맥압의 상승이 유발되었으며<sup>18)</sup>, 관상 혈류량 및 신장 혈류량 등도 vanadate에 의해 현저히 감소됨이 보고되었다<sup>19)</sup>. 또한 적출된 혈관 평활근의 수축력 역시 vanadate에 의해 증가됨이 보고되었으나<sup>17,20,21)</sup>, 이같은 혈관 긴장도 조절에 미치는 vanadate의 작용 기전에 대해서는 아직 명확치 않다.

또한 vanadate가 심장이나 골격근 및 혈관 평활근등의  $\text{Na}^{+}-\text{K}^{+}-\text{ATPase}$ 와  $\text{Ca}^{++}$  ATPase의 활성을 억제함은 잘 알려져 있으며<sup>15,16,21,22)</sup>, vanadate에 의한 ATPase의 활성억제 효과와 혈관 평활근 수축력 증가 효과 사이의 상관 관계를 규명코자하는 많은 시도가 있었다. 즉, vanadate에 의해 혈관 평활근막에 존재하는  $\text{Na}^{+}-\text{K}^{+}-\text{ATPase}$ 의 활성이 억제되는 경우, 세포내에  $\text{Na}^{+}$ 의 축적과 이에 따른 막전압의 탈분극이 초래되게 된다<sup>6,9)</sup>. 이 결과 voltage-operated  $\text{Ca}^{++}$  channel을 통한  $\text{Ca}^{++}$ 의 유입이 증가하게 되고, 동시에  $\text{Na}^{+}-\text{Ca}^{++}$  exchange process를 통한  $\text{Ca}^{++}$  유출이 감소하여<sup>23)</sup> 세포내 유리

$\text{Ca}^{++}$  농도를 증가시키고 이에 따라 혈관 평활근의 수축력이 증가한다는 주장이 제기되었으나<sup>24)</sup>, 다른 많은 연구자들에 의해 vanadate의  $\text{Na}^{+}-\text{K}^{+}-\text{ATPase}$  억제 효과와 혈관 평활근 수축력 증가효과 사이의 직접적인 연관성에 대해 의문이 제기되었다<sup>9,22)</sup>. 또한 vanadate에 의한 혈관 평활근막의  $\text{Ca}^{++}$  ATPase 억제 효과 역시 세포내 유리  $\text{Ca}^{++}$  농도를 증가시켜 혈관 평활근의 수축을 유도할수 있으리라 생각되나 정확한 상관관계는 아직 명확치 않다<sup>25,26,27)</sup>.

한편 적출된 대동맥환의 내피세포에서는 혈관 평활근을 이완시키는 요소(endothelium-derived relaxing factor)와 수축시키는 요소(endothelium-derived contracting factor)등이 유리되어 혈관 평활근의 수축력에 영향을 끼치게 됨은 잘 알려져 있다<sup>28)</sup>.

따라서 본 연구에서는 혈관 평활근 수축력에 미치는 혈관 내피세포의 영향을 배제하기 위하여 내피세포를 제거한 대동맥환 표본을 만들어 1) vanadate의  $\text{Na}^{+}-\text{K}^{+}-\text{ATPase}$  활성 억제 효과와 평활근 수축력 사이의 상관 관계를 관찰하고, 2) vanadate에 의한  $\text{Ca}^{++}-\text{ATPase}$  억제 효과를 포함한 기타 효과가 평활근 수축력에 미치는 영향을 관찰함으로써 가토의 하행성 흉부 대동맥 혈관 평활근의 수축력에 미치는 vanadate의 작용 기전을 규명해보고자 하였다.

## 대상 및 방법

### 1. 실험재료

실험동물로는 체중 1.5 내지 2.0Kg 내외의 가토를 암 수 구별없이 사용하였다.

### 2. 실험방법

#### 1) 대동맥환의 제조

가토를 두부강타하여 희생시킨 후 흉곽을 열어 하행성 흉부대동맥을 적출하여 이를 실온에서 혼합기체 (95%  $\text{O}_2$ +5%  $\text{CO}_2$ )로 포화된 Krebs-Henseleit 용액(KH용액; mM : NaCl, 118; KCl, 4.8;  $\text{CaCl}_2$ , 2.5;  $\text{MgSO}_4$ , 1.2;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 1.2;  $\text{NaHCO}_3$ , 24; glucose, 11;  $\text{Na}_2\text{EDTA}$ , 0.03; pH7.4)에 담그어 현미경하에서 혈관 주위의 지방과 결체조직을 제거한 후, 이를 2~3mm 폭으로 잘라 대동맥환을

만들었고, 혈관 검자를 혈관강에 삽입한 후 내벽을 가볍게 문질러서 내피세포(endothelial cell)가 없는 대동맥환을 만들어 실험에 사용하였다. 혈관의 내피세포 존재 유무는 Furchgott등<sup>29)</sup>의 방법으로 확인하였다. 즉,  $1 \times 10^{-6}$ M의 norepinephrine으로 혈관 수축을 유도하고 norepinephrine 존재하에  $1 \times 10^{-6}$ M의 acetylcholine을 첨가하여 수축된 혈관이 이완하면 내피세포가 존재하는 것으로 간주하고, 수축된 혈관이 이완되지 않거나 오히려 더 수축이 되는 경우는 내피세포가 제거된 것으로 간주하였다.

## 2) 장력의 측정

대동맥환은 용량 20ml의 muscle chamber에 담그어 L자로 된 2개의 stainless steel hook(직경 0.6 mm)을 혈관강에 삽입하고, 하나의 hook의 일단은 muscle chamber의 하단에 고정하고, 다른 hook의 일단은 force transducer(Grass Model FT03)에 연결하여 혈관의 등척성 장력을 Polygraph(Grass Model 7P)에 기록하였다(Fig. 1). 대동맥환은 혼합기

체가 충분히 공급되고, 온도가 37°C로 유지되는 KH 용액의 muscle chamber에 고정시킨 후 2gm의 안정장력을 가하여 120분간 온도 및 흥분성이 일정해질 때 까지 평형을 유지시켰다. 이 2시간의 평형기간에  $1 \times 10^{-6}$ M의 norepinephrine으로 혈관 수축을 유도 후 세척시키는 과정을 2 내지 3회 반복하였으며, norepinephrine에 의한 혈관 평활근의 수축고가 일정해졌을 때 본 실험을 시행하였다.

## 3) Vanadate에 의한 혈관장력 변화의 측정

내피세포가 제거된 혈관을 37°C의 muscle chamber에서 온도, 흥분성을 평형시킨 후 vanadate를 0.25, 0.5, 1.0, 1.5mM 되게 점진적으로 첨가하여 혈관 수축의 누적-용량 반응을 측정하였다.

## 4) Adrenergic blocking agent, indomethacin, ouabain 존재시 vanadate에 의한 혈관 장력 변화의 측정

내피세포가 제거된 혈관에서 vanadate에 의한

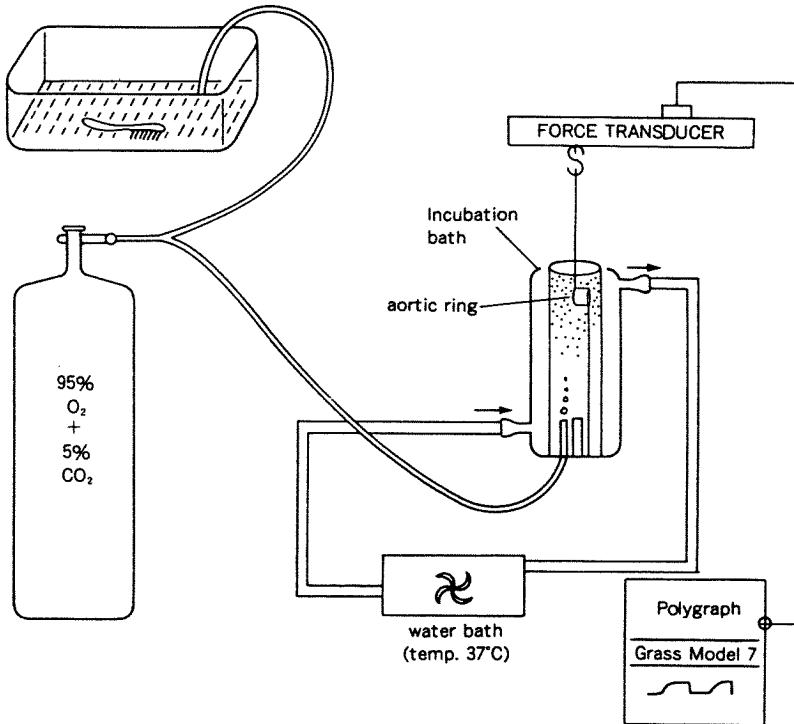


Fig. 1. 혈관 평활근의 장력측정 장치. 대동맥 환내에 L자의 stainless steel hook을 삽입하여 하단은 muscle chamber 밑에 고정하고, 상단은 force transducer에 연결하여 혈관 평활근에서 발생되는 등척성 장력을 Polygraph에 기록하였음. 실험 기간 동안 chamber내의 온도는 37°C로 일정하게 유지하였고 혼합 기체를 공급하였다.

혈관 수축이 어느 기전을 통해서 일어나는 것인지를 밝히기 위해 다음과 같은 실험을 수행하였다.

(1) Phentolamine 존재시 vanadate에 의한 혈관 장력 변화의 측정

$\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ 의 억제제는 혈관 평활근에서 intrinsic noradrenaline을 유리한다는 것이 밝혀졌으므로 이를 규명하기 위해 내피세포가 제거된 혈관에 1mM vanadate를 처리하여 혈관 평활근의 장력 변화가 일정해졌을 때 정상 KH용액으로 세척하였다. 30분간의 세척과정 후  $5 \times 10^{-6}\text{M}$  phentolamine으로 20분간 incubation한 후 여기에 1mM vanadate를 첨가하여 혈관 평활근의 장력 변화를 측정하여 이를 전 처리하지 않은 대조군과 비교하였다.

(2) Indomethacin 존재시 vanadate에 의한 혈관 장력 변화의 측정

$\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ 의 억제제는 prostaglandin의 유리가 촉진되므로 이를 규명하기 위해 1mM vanadate를 muscle chamber에 첨가하여 혈관 평활근의 장력 변화가 일정해졌을 때 정상 KH용액으로 세척하였다. 30분간의 세척과정 후  $1 \times 10^{-6}\text{M}$  indomethacin으로 40분간 incubation한 후 여기에 1mM vanadate를 첨가하여 혈관 평활근의 장력 변화를 측정하여 이를 전 처리하지 않은 대조군과 비교하였다.

(3) Ouabain 존재시 vanadate에 의한 혈관 장력 변화의 측정

1mM vanadate를 muscle chamber에 첨가하여 혈관 평활근의 장력 변화가 일정해졌을 때 정상 KH용액으로 세척하였다. 30분간의 세척과정 후  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ 의 억제제인 ouabain( $0.1\text{mM}$ )을 첨가하여 혈관의 basal tension이 상승되어 평형에 이르면 1mM vanadate를 첨가하여 혈관 평활근의 장력 변화를 측정하여 이를 전 처리하지 않은 대조군과 비교하였다. 또한,  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$  억제시 intrinsic norepinephrine과 prostaglandin이 유리된다고 밝혀졌으므로 이를 차단하기 위해  $5 \times 10^{-5}\text{M}$  phentolamine,  $1 \times 10^{-6}\text{M}$  indomethacin으로 40분간 incubation한 후,  $0.1\text{mM}$  ouabain을 첨가하여 basal tension이 평형에 이를 때 1mM vanadate를 첨가하여 혈관 평활근의 장력 변화를 측정하여 이를 전 처리하지 않은 대조군과 비교하였다.

5) 4,4'-diisothiocyanostilbene-2,2'-disulfonic acid(DIDS)존재시 vanadate에 의한 혈관 장력 변화의 측정

Vanadate의 혈관 장력 변화의 기전을 규명하기 위한 하나의 방법으로 vanadate의 작용 부위를 규명하기 위해 다음과 같은 실험을 시행하였다.

1mM vanadate를 muscle chamber에 첨가하여 혈관 평활근의 장력 변화가 일정해졌을 때 정상 KH용액으로 세척하였다. 30분간의 세척과정 후 anion transport 억제제인 DIDS(1mM)로 40분간 incubation한 후 여기에 1mM vanadate를 첨가하여 혈관 평활근의 장력 변화를 측정하여 이를 전 처리하지 않은 대조군과 비교하였다.

6) 고농도의  $\text{K}^+$  전 처리시 vanadate에 의한 혈관 장력 변화의 측정

Muscle chamber에 vanadate(1mM)를 첨가하여 혈관 평활근의 장력 변화가 일정해졌을 때 정상 KH용액으로 세척하였다. 30분간의 세척과정 후 고농도의  $\text{K}^+$ (KH용액의 조성중  $\text{Na}^+$ 을  $\text{K}^+$ 으로 대체하였음, 123mM)용액으로 혈관 평활근의 수축을 유도한 후 그 수축고가 평형에 도달하였을 때 1mM vanadate를 첨가하여 혈관 평활근의 장력 변화를 측정하여 이를 전 처리하지 않은 대조군과 비교하였다.

7) Vanadate가 혈관 수축시 동원되는  $\text{Ca}^{++}$ 의 근원에 미치는 영향

Vanadate에 의한 혈관 수축시 동원되는  $\text{Ca}^{++}$ 의 근원을 규명하기 위해 먼저 1mM vanadate에 의한 혈관 수축을 측정한 후 세포외액으로부터 유입되는  $\text{Ca}^{++}$ 을 차단하기 위해 verapamil( $10\mu\text{M}$ )과 lanthanum( $1.5\text{mM}$ )을 20분간 전 처리한 후 vanadate를 처리하여 혈관 평활근의 수축 정도를 대조군과 비교하였다. 다른 한편으로 sarcoplasmic reticulum으로부터 유리되는  $\text{Ca}^{++}$ 을 ryanodine( $1\mu\text{M}$ )으로 20분간 전 처리하여 차단한 후 vanadate를 처리하여 혈관 평활근의 수축 정도를 측정하여 대조군과 비교하였고, 이런 상태에서 verapamil과 lanthanum을 재처리하여 혈관 평활근의 장력 변화를 측정하였다.

8) 자료분석 및 통계처리

Vanadate가 혈관 평활근의 장력에 미치는 실험

결과는 1.5mM vanadate때 혈관 수축에 대한 백분율(%)로서 평균±표준오차로 나타냈으며 그외의 실험결과는 norepinephrine( $10^{-6}$ M)으로 유도된 혈관 수축에 대한 백분율(%)로 평균±표준오차로 나타내었다. 대조군과 실험군간의 차이는 paired t-test로 유의성을 검정하였고, p value가 0.05 이하시 유의한 것으로 간주하였다.

## 성 적

### 1. Vanadate가 혈관 장력 변화에 미치는 영향

Vanadate가 혈관 평활근의 장력 변화에 미치는 영향은 Fig. 2에 나타낸 바와 같다. 이 그림에서 보는

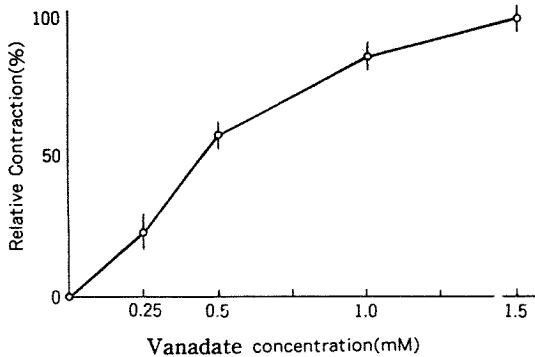


Fig. 2. Vanadate가 혈관 장력 변화에 미치는 영향.

바와 같이 내피세포가 제거된 혈관에서 vanadate는 혈관 평활근의 수축을 야기하며, 그 수축고의 크기는 0.25, 0.5, 1.0 및 1.5mM의 vanadate 농도에서 각각  $22.1 \pm 4.59$ ,  $56.9 \pm 2.91$ ,  $86.4 \pm 2.88$  및 100(%)으로 vanadate의 농도에 비례하여 증가되었다. 1.5 mM vanadate에 의한 혈관 평활근의 수축이 가장 크게 나타나나 유도된 수축이 매우 불안정하고 1 mM vanadate에 의한 수축의 크기와 유의있는 차이가 없으므로 앞으로의 실험에서는 1mM의 vanadate를 사용하여서 혈관 평활근의 장력에 미치는 vanadate의 작용 기전을 조사하였다.

### 2. Phentolamine 전 처치가 vanadate에 의한 혈관 수축에 미치는 영향

Vanadate에 의한 혈관 평활근의 수축이 vanadate 처치시  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ 의 억제로 인한 intrinsic norepinephrine의 유리에 기인하는 것인지를 규명하기 위한 실험 결과는 Fig. 3에 나타낸 바와 같다. 이 그림에서 보는 바와 같이 vanadate(1mM)를 muscle chamber에 가했을 때 혈관 평활근의 수축이 유도되며 그 수축의 크기는  $25.6 \pm 5.18\%$  이었다. 30분간의 세척과정 후  $5 \times 10^{-5}$ M phentolamine으로 20분간 전 처치한 후 vanadate(1mM)를 처치한 경우 여전히 혈관 평활근의 수축이 유도되며 그 수축의 크기는  $27.6 \pm 6.17\%$ 로서 대조군과는 유의성 있는

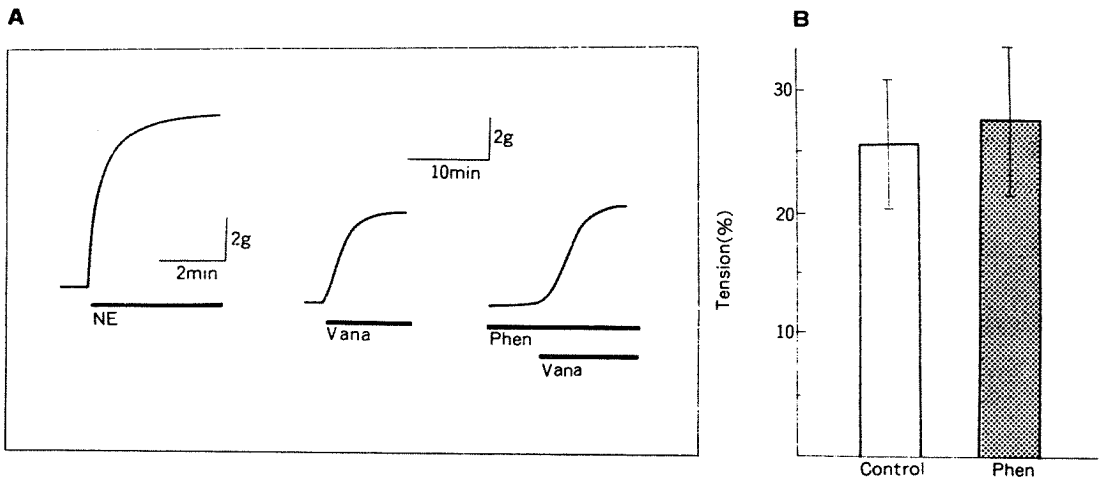


Fig. 3. Phentolamine 전 처치가 vanadate에 의한 혈관 수축에 미치는 영향. Phentolamine 전 처치가 vanadate에 의한 혈관 수축에 미치는 영향을 관찰한 것으로 그림 좌측은 전형적인 기록을 나타낸 것이고 우측은 vanadate( $\text{Na}_3\text{VO}_4$ )에 의한 혈관수축 (Control)과 phentolamine 전 처치 때 vanadate에 의한 수축(Phentolamine)을  $10^{-6}$  M norepinephrine(NE)으로 유도된 수축고에 대한 상대적인 값으로 평균±표준오차(실험예수 10)로 나타낸 것임.

차이를 보이지 않았다. 따라서 vanadate에 의한 혈관 평활근의 수축은 vanadate 처치시  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ 의 억제에 의한 intrinsic norepinephrine의 유리에 의한 것이 아닌 다른 기전을 통해 일어날 것으로 생각된다.

### 3. Indomethacin 전 처치가 vanadate에 의한 혈관 수축에 미치는 영향

Vanadate에 의한 혈관 평활근의 수축이 vanadate 처치시  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ 의 억제에 의한 prostaglandin의 유리에 기인하는 것인지를 규명하기 위한 실험 결과는 Fig. 4에 나타난 바와 같다. 이 그림에서 보는 바와 같이 vanadate(1mM)를 muscle chamber에 가했을 때 혈관 평활근의 수축이 유도되며 그 수축의 크기는  $47.7 \pm 5.4\%$  이었다. 30분간의 세척과정 후  $10^{-6}\text{M}$  indomethacin으로 40분간 전 처치한 후 vanadate(1mM)를 처치한 경우 여전히 혈관 평활근의 수축이 유도되며 그 수축의 크기는  $44.4 \pm 5.7\%$ 로서 대조군과 유의성 있는 차이를 보이지 않았다. 그러므로 vanadate에 의한 혈관 평활근의 수축은 vanadate 처치시  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ 의 억제에 의한 prostaglandin의 유리에 의한 것이 아닌 다른 기전을 통해 일어날 것으로 생각된다.

### 4. $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ 억제가 vanadate에 의한 혈관 수축에 미치는 영향

Vanadate에 의한 혈관 평활근의 수축이 vanadate 처치시  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ 의 억제에 기인하는 것인지를 규명하기 위한 실험 결과는 Fig. 5와 6에 나타난 바와 같다. Fig. 5에서 보는 바와 같이 vanadate(1mM)를 muscle chamber에 가했을 때 혈관 평활근의 수축이 유도되며 그 수축의 크기는  $50.7 \pm 9.5\%$  이었다. 30분간의 세척과정 후  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ 의 억제제인 ouabain(0.1mM)을 처치하여 수축이 평형에 도달한 후에 1mM의 vanadate를 처리하였을 때의 총 혈관 수축고는  $94.4 \pm 3.2\%$ 를 나타내어 ouabain을 처치하지 않은 경우의 수축고 보다 증가하고, ouabain처치 후에도 혈관은 vanadate에 의해 수축고를 나타내므로 vanadate에 의한 혈관 수축은 ouabain 전 처치에 의해 완전히 억제 되지 않음을 알 수 있다. 또한 phentolamine과 indomethacin을 40분간 전 처치 하여서  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$  억제에 의해 유리될 수 있는 intrinsic norepinephrine과 prostaglandin의 영향을 제거한 후에, 0.1mM ouabain을 처치하여  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ 를 억제할 때는 ouabain에 의한 혈관 수축은 나타나지

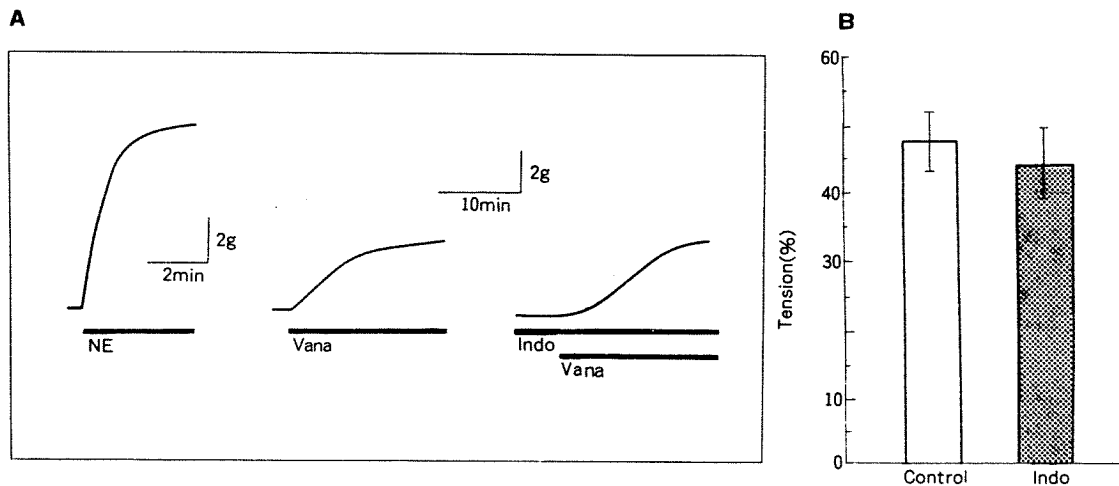


Fig. 4. Indomethacin 전 처치가 vanadate에 의한 혈관 수축에 미치는 영향. Indomethacin 전 처치가 vanadate에 의한 혈관 수축에 미치는 영향을 관찰한 것으로 그림 좌측은 전형적인 기록을 나타낸 것이고 우측은 vanadate( $\text{Na}_3\text{VO}_4$ )에 의한 혈관 수축(Control)과 indomethacin 전 처치 때 vanadate에 의한 수축(Indomethacin)을  $10^{-6}\text{M}$  norepinephrine(NE)으로 유도된 수축고에 대한 상대적인 값으로 평균±표준 오차(실험예수 12)로 나타낸 것임.

않고, 1mM vanadate를 처리하였을 경우에는 여전히 혈관 수축이 일어나며 그 수축고의 크기는  $75.9 \pm 6.6\%$  이었다(Fig. 6). 따라서 vanadate에 의한 혈관

평활근의 수축은  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ 억제에 의한 것이 아니라 다른 기전이 존재하여 그 작용을 매개할 것이라는 것을 알 수 있다.

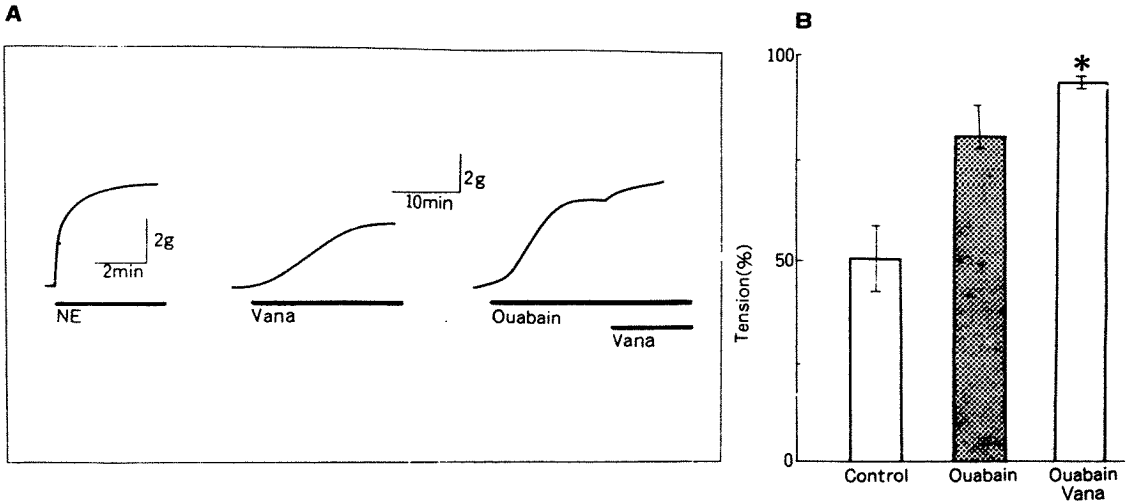


Fig. 5. Ouabain 전 처치가 vanadate에 의한 혈관 수축에 미치는 영향. Ouabain 전 처치가 vanadate에 의한 혈관 수축에 미치는 영향을 관찰한 것으로 그림 좌측은 전형적인 기록을 나타낸 것이고 우측은 vanadate( $\text{Na}_3\text{VO}_4$ )에 의한 혈관 수축(Control), ouabain에 의한 혈관 수축(Ouabain)과 ouabain 전 처치 때 vanadate에 의한 수축(Ouabain+ $\text{Na}_3\text{VO}_4$ )을  $10^{-6}$  M norepinephrine(NE)으로 유도된 수축고에 대한 상대적인 값으로 평균 $\pm$ 표준오차(실험예수 8)로 나타낸 것임.

\* ;  $p < 0.05$ (대조군과 비교하였을 경우)

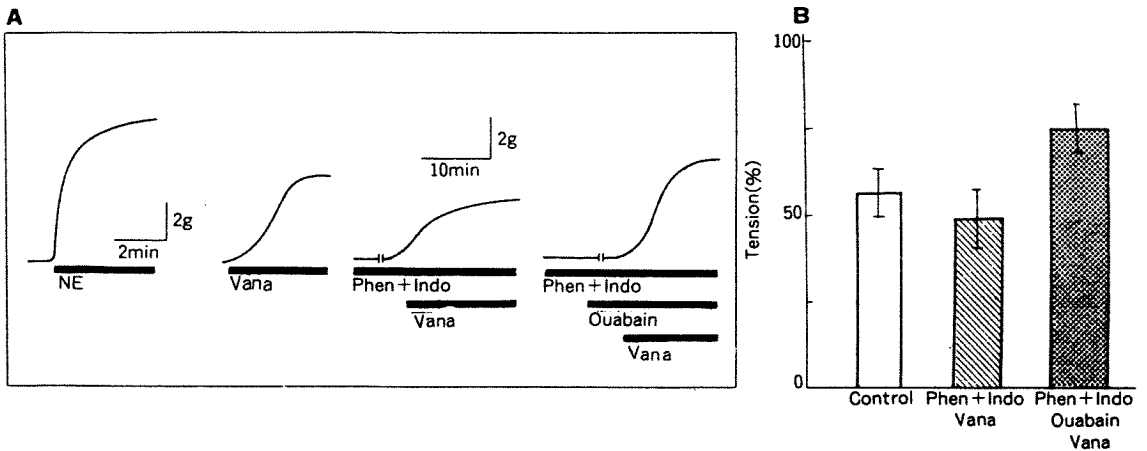


Fig. 6. Phentolamine, indomethacin, ouabain 전 처치가 vanadate에 의한 혈관 수축에 미치는 영향. Phentolamine, indomethacin, ouabain 전 처치가 vanadate에 의한 혈관 수축에 미치는 영향을 관찰한 것으로 그림 좌측은 전형적인 기록을 나타낸 것이고 우측은 vanadate( $\text{Na}_3\text{VO}_4$ )에 의한 혈관 수축(Control)과 phentolamine+indomethacin 전 처치 때 vanadate에 의한 수축(Phen+Indo+Ouabain) 및 phentolamine+indomethacin+ouabain 전 처치 때 vanadate에 의한 수축(Phen+Indo+Ouabain+ $\text{Na}_3\text{VO}_4$ )을  $10^{-6}$  M norepinephrine(NE)으로 유도된 수축고에 대한 상대적인 값으로 평균 $\pm$ 표준오차(실험예수 14)로 나타낸 것임.

Phen ; phentolamine, Indo ; indomethacin

## 5. DIDS 전 처치가 vanadate에 의한 혈관 수축에 미치는 영향

Vanadate에 의한 혈관 평활근의 수축시 vanadate의 작용 부위를 규명하기 위하여 실험한 결과는 Fig. 7에 나타낸 바와 같다. 이 그림에서 보는 바와 같이 vanadate(1mM)를 muscle chamber에 가했을 때 혈관 평활근의 수축이 유도되며 그 수축의 크

기는  $26.3 \pm 6.66\%$  이었다. 그러나 30분간의 세척 과정 후 음이온 수송 억제제인 DIDS( $10^{-3}M$ )를 40분간 전 처치한 후 1mM vanadate를 처치한 경우 혈관 평활근의 수축이 현저히 감소되어  $9.8 \pm 3.06\%$ 의 크기를 나타내었다. 그러므로 vanadate는 혈관 평활근 세포내로 이동하여서 세포내에서 작용함으로써 혈관 평활근의 수축을 야기할 것이라고 볼 수 있다.

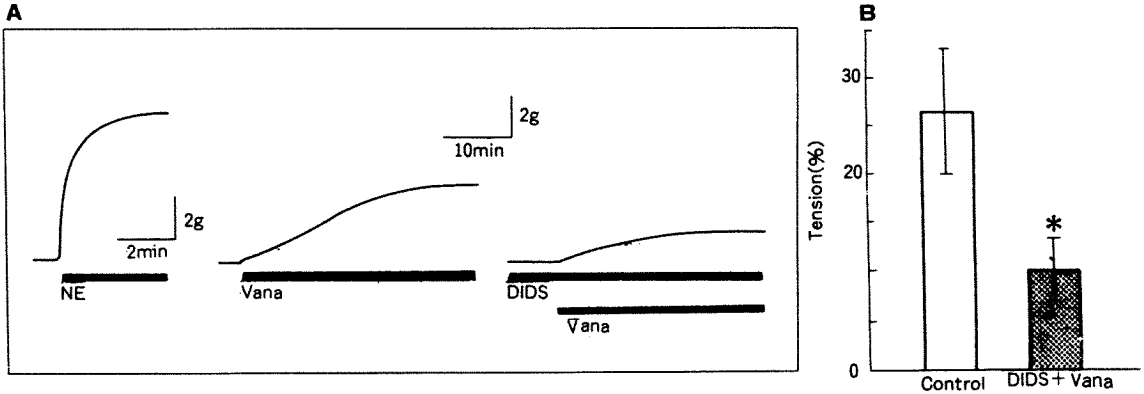


Fig. 7. DIDS 전 처치가 vanadate에 의한 혈관 수축에 미치는 영향. DIDS 전 처치가 vanadate에 의한 혈관 수축에 미치는 영향을 관찰한 것으로 그림 좌측은 전형적인 기록을 나타낸 것이고 우측은 vanadate ( $Na_3VO_4$ )에 의한 혈관수축(Control)과 DIDS 전 처치 때 vanadate에 의한 수축(DIDS +  $Na_3VO_4$ )을  $10^{-6} M$  norepinephrine(NE)으로 유도된 수축고에 대한 상대적인 값으로 평균  $\pm$  표준오차(실험예수 12)로 나타낸 것임.

DIDS ; 4,4'-diisothiocyanostilbene-2,2'-disulfonic acid, \* ;  $p < 0.05$ (대조군과 비교하였을 경우)

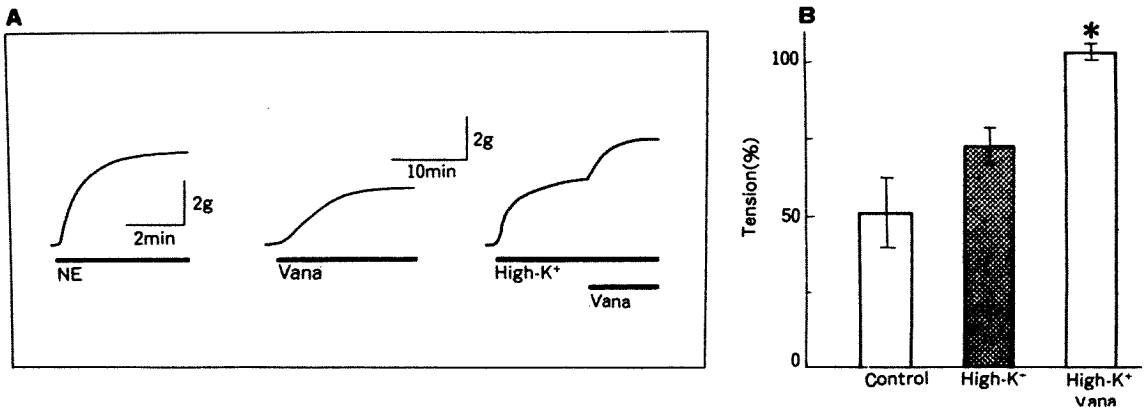


Fig. 8. 고농도의  $K^+$  전 처치가 vanadate에 의한 혈관 수축에 미치는 영향. 고농도의  $K^+$  전 처치가 vanadate에 의한 혈관 수축에 미치는 영향을 관찰한 것으로 그림 좌측은 전형적인 기록을 나타낸 것이고 우측은 vanadate ( $Na_3VO_4$ )에 의한 혈관 수축(Control), 고농도의  $K^+$ 에 의한 혈관 수축(High- $K^+$ )과 고농도의  $K^+$  전 처치때 vanadate에 의한 혈관 수축(High- $K^+$  +  $Na_3VO_4$ )을  $10^{-6} M$  norepinephrine(NE)으로 유도된 수축고에 대한 상대적인 값으로 평균  $\pm$  표준오차(실험예수 10)로 나타낸 것임.

\* ;  $p < 0.05$ (대조군과 비교하였을 경우)



## 6. 고농도의 K<sup>+</sup> 처치가 vanadate에 의한 혈관 수축에 미치는 영향

고농도 K<sup>+</sup>으로 혈관 평활근의 수축을 유도한 후 vanadate가 혈관 평활근의 수축에 미치는 영향을 실험한 결과는 Fig. 8에 나타난 바와 같다. 이 그림에서 보는 바와 같이 muscle chamber에 고농도의 K<sup>+</sup>을 처리하여 혈관 평활근의 수축이 평형에 도달한 후 1mM vanadate를 처리하여 혈관 수축고를 조사하였다. 고농도의 K<sup>+</sup> 전 처리는 basal tension의 증가를 야기하여 대조군(51.0±11.3%)에 비하여 총 혈관 수축고가 증가(101.9±2.8%)하였으며, vanadate에 의해서만 나타나는 혈관 평활근의 수축의 크기는 대조군과 고농도의 K<sup>+</sup> 처리군에서 각각 51.0±11.3 및 30.1±5.4(%)로 고농도의 K<sup>+</sup> 처리 시에도 vanadate에 의한 혈관 수축이 존재하였다.

## 7. Vanadate가 혈관 수축시 동원되는 Ca<sup>++</sup>의 근원에 미치는 영향

Vanadate에 의한 혈관수축시 동원되는 Ca<sup>++</sup>의 근원을 규명하기 위해 실험한 결과는 Fig. 9에 나타난 바와 같다. 이 그림에서 보는 바와 같이 verapamil과 lanthanum을 처리하여 세포외액으로 부터 유입되는 Ca<sup>++</sup>을 차단한 경우(Fig. 9의 C), vanadate에 의한 혈관 수축은 대조군(Fig. 9의 B)에 비해 현저히 감소되었다. 또한 ryanodine을 전 처리하여 sarcoplasmic reticulum에서 유리되는 Ca<sup>++</sup>을 차단한 경우(Fig. 9의 D)에도 vanadate에 의한 혈관 수축은 현저히 감소되었다. 한편, ryanodine을 전 처리한 후 vanadate로 유도된 혈관수축이 verapamil과 lanthanum의 처리로 완전히 이완되지 않음을 알 수 있다. 이에 반하여 norepinephrine으로 유도된 혈관수축은 verapamil, lanthanum 및 ryanodine에 의해 완전히 이완되었다(Fig. 9의 A).

## 고 찰

여러 혈관 평활근에서 vanadate의 작용은 혈관 평활근의 수축을 야기하는 것으로 알려졌다<sup>13, 16, 17, 19, 20, 30, 31</sup>) 이들 실험들은 혈관의 수축력이 혈관 내피세포의 존재 유무에 따라 영향을 받는다는 것이 밝혀지기 이전의 실험결과들로서 내피세포가 혈관의 수축과 이완에 미치는 역할을 고려하지 않은

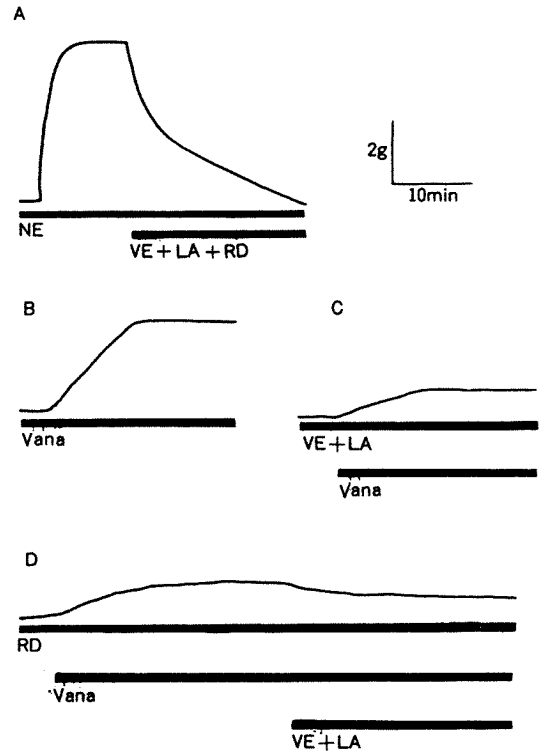


Fig. 9. Vanadate가 혈관 수축시 동원되는 Ca<sup>++</sup>의 근원에 미치는 영향. Vanadate가 혈관 수축시 동원되는 Ca<sup>++</sup>의 근원에 미치는 영향을 관찰한 것으로 A는 norepinephrine으로 유도된 혈관 수축이 verapamil, lanthanum과 ryanodine의 처리로 완전히 이완되는 것을 나타낸 것이고 B는 vanadate에 의한 혈관 수축을, C는 verapamil과 lanthanum 전 처리시 vanadate에 의한 혈관수축을, D는 ryanodine 전 처리시 vanadate에 의한 혈관 수축과 이때 verapamil과 lanthanum을 처리시 혈관 이완을 나타낸 것임. NE ; norepinephrine, VE ; verapamil LA ; lanthanum, RD ; ryanodine

결과이다. 1980년경에 Furchgott등<sup>29</sup>)에 의해서 내피세포가 혈관을 이완시키는 endothelium-derived relaxing factor(EDRF)를 유리하며 이는 acetylcholine과 같은 혈관이완제 처리시에 분비가 촉진된다고 밝혀진 이래, 많은 학자들이 EDRF에 관하여 연구를 하여 acetylcholine이외에도 여러 물질들이 endothelium-dependent relaxation을 나타낸다고 밝혀졌다. 정등<sup>32</sup>)에 의하면 vanadate도 내피세포가 존재하는 대동맥에서 acetylcholine과 유사하게 혈관의 내피세포에 작용하여 endothelium-derived vascular relaxant로서 작용한다고 보고하였다. 본 실험

험에서는 가트의 하행성 흥부대동맥의 내피세포를 제거하여 내피세포에 의한 혈관의 수축 또는 이완의 영향을 배제한 후, vanadate가 혈관 평활근에 작용하여 혈관의 장력에 미치는 영향을 알아 보고자 하였다.

Vanadate는 내피세포를 제거한 혈관 평활근에서 혈관의 수축을 야기하였는데 처리한 vanadate의 농도에 비례하여 수축도가 증가하였으며, 1.5mM 이상의 농도에서는 더 이상의 증가를 보이지 않았다 (Fig. 2).

### 1) Vanadate에 의한 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ 억제효과가 혈관 평활근의 장력에 미치는 영향

Vanadate는 신경 및 근육조직등에서  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ 의 작용을 억제한다고 보고되었으<sup>15,16,33)</sup>, 혈관 평활근의  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$  역시 vanadate에 의하여 억제됨이 보고되었다<sup>21,22)</sup>. 또한 실험적으로 ouabain등을 투여하여  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$  활성을 저하시키는 경우 혈관 평활근의 수축이 유발된다는 보고<sup>24)</sup>등으로 미루어 보아 vanadate에 의한 혈관 수축은 그의  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$  억제효과에 기인한다고 생각된다. 즉 vanadate에 의한  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ 의 억제에 의해 세포내  $\text{Na}^+$ 이 증가되고 이에 따른 막전압의 탈분극은  $\text{Na}^+ - \text{Ca}^{++}$  exchange mechanism를 통한  $\text{Ca}^{++}$  유출의 감소 및 voltage-operated  $\text{Ca}^{++}$  channel을 통한  $\text{Ca}^{++}$  유입을 증가시켜 세포내 유리  $\text{Ca}^{++}$  양을 증가시킴으로서 혈관 평활근의 수축을 야기할 수 있다. 그런데 vanadate 투여시 혈관내재 신경말단에서 intrinsic norepinephrine 및 prostaglandin의 유리가 초래됨이 많은 이들에 의해 보고되었다<sup>34,35)</sup>. 이같은 norepinephrine 및 prostaglandine에 의해 혈관 장력의 크기가 변화될 수 있으므로, phentolamine 및 indomethacin을 전 처리한 후 vanadate에 의한 혈관 수축 정도의 변화 유무를 살펴본 결과 phentolamine 및 indomethacin 전 처리가 vanadate에 의한 혈관 수축에 유의한 영향을 미치지 못하였다(Fig. 3, 4).

Vanadate에 의한 혈관 수축이 혈관 평활근의  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$  억제효과에 기인한 것인지를 알아보기 위해 ouabain(0.1mM)을 전 처리하여 수축력의 크기가 평형에 도달한 후 vanadate를 투여한

경우 다시 혈관 수축이 일어나는 것을 관찰할 수 있었다. 그러나 phentolamine 및 indomethacin을 전 처리한 경우 ouabain에 의한 혈관 평활근 수축이 발생하지 않았으나, 이런 조건하에서도 vanadate 투여때는 혈관 수축이 유도되었다(Fig. 5, 6). 따라서 본 실험에서 사용한 가토 평활근의 경우 ouabain 또는 vanadate에 의한  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$  억제 야기되는 세포막의 탈분극은 혈관 평활근의 수축력에 영향을 미치지 않음을 알 수 있고<sup>9,36)</sup>, 또한 세포내  $\text{Ca}^{++}$  조절에  $\text{Na}^+ - \text{Ca}^{++}$  exchanger의 역할이 미비할 것으로 생각된다. 따라서 vanadate에 의한  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$  억제효과 단독만으로는 혈관 평활근의 수축에 영향을 끼치지 못함을 시사한다.

한편 적혈구에서 vanadate의 수송은 주로 anion transport inhibitors에 민감한 기전에 의해 일어난다고 보고<sup>42)</sup> 되었는데, 이후 혈관 평활근에서 vanadate는 음이온( $\text{VO}_3^-$ )의 형태로 존재하기 때문에 쥐의 대동맥에서 anion transport 기전에 의해 세포내로 유입되고<sup>43)</sup>, 실제 혈관 평활근에서 anion transport 기전에 의해 vanadate가 세포내로 유입된다는 것이 알려져 있다<sup>44)</sup>.

따라서 본 실험에서도 vanadate에 의한 혈관 평활근 수축시 vanadate의 작용 부위를 규명하기 위해 실험한 결과, 음이온 수송 억제제인 DIDS를 처리하여 평활근 세포내로의 vanadate 유입을 억제한 경우 vanadate에 의한 수축력 크기가 현저히 감소됨이 관찰되었다(Fig. 7). 이같은 결과는 vanadate가 직접 혈관 평활근 세포에 들어가서 세포내에서 작용하여 혈관 평활근의 장력을 증가시키는 것으로 생각되어 진다.

### 2) 세포막을 통한 $\text{Ca}^{++}$ 이동에 미치는 vanadate의 효과

혈관 평활근의 세포내 유리  $\text{Ca}^{++}$  농도는 receptor 및 voltage-operated  $\text{Ca}^{++}$  channel을 통한  $\text{Ca}^{++}$  유입 및 세포내  $\text{Ca}^{++}$  저장소로부터의  $\text{Ca}^{++}$  유리 및 혈관 평활근막의  $\text{Ca}^{++}$  pump에 의한  $\text{Ca}^{++}$  유출에 의해 조절됨은 잘 알려져 있다<sup>37,38,39,40)</sup>. 따라서 본 실험에서는 voltage-operated  $\text{Ca}^{++}$  channel을 통한  $\text{Ca}^{++}$  유입 및 세포내  $\text{Ca}^{++}$  저장소로부터의  $\text{Ca}^{++}$  유리에 미치는 vanadate의 영향을

관찰하기 위해 verapamil, lanthanum 및 ryanodine을 전 처치한 결과, vanadate에 의한 수축력의 크기가 현저히 감소하였다(Fig. 9). 이는 vanadate에 의해  $Ca^{++}$  유입 및 세포내  $Ca^{++}$  저장소로부터의  $Ca^{++}$  동원이 증가함을 시사한다. 그런데 그 수축력의 크기가 norepinephrine으로 유발시킨 경우와는 달리 완전히 이완되지 않았다(Fig. 9). 이는 vanadate가 혈관 평활근막의  $Ca^{++}$  ATPase를 억제하여 나타난 결과로 생각되는데 실제 vanadate가 분리한 평활근 세포막의  $Ca^{++}$  ATPase의 활성을 억제한다고 보고되었다<sup>25)</sup>. 따라서 vanadate가 혈관 평활근막의  $Ca^{++}$ -ATPase 활성을 억제하여 세포내 유리  $Ca^{++}$ 의 농도를 증가시켜 혈관을 수축시킬 것이라고 추측된다.

이상의 성적을 종합하여 볼 때 vanadate는 가토의 하행성 흉부 대동맥에서 혈관 평활근에 직접 작용하여 혈관 수축을 야기하는데 그 기전으로는  $Na^{+}-K^{+}-ATPase$  억제에 의한 것 뿐만아니라 혈관 평활근막을 통한  $Ca^{++}$  유입 및 sarcoplasmic reticulum으로 부터의  $Ca^{++}$ 을 유리시키고 다른 한편으로 혈관 평활근막에 존재하는  $Ca^{++}$ -ATPase를 억제함으로써 세포내 유리  $Ca^{++}$  농도를 증가시켜 혈관 평활근을 수축시킬 것으로 생각된다.

## 요 약

가토 대동맥 평활근에서 vanadate가 혈관 평활근의 수축력에 미치는 영향을 관찰하고 그 기전을 규명하고자 실험한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

- 1) Vanadate는 혈관 평활근을 농도 의존적으로 수축시켰다.
- 2) Vanadate는 phentolamine으로 전 처치된 혈관 평활근에서도 혈관을 수축시켰다.
- 3) Vanadate는 indomethacin으로 전 처치된 혈관 평활근에서도 혈관을 수축시켰다.
- 4) Phentolamine 과 indomethacin으로 전 처치된 혈관 평활근에서 ouabain 은 혈관 수축을 일으키지 않았으나, vanadate는 phentolamine, indomethacin 및 ouabain으로 처치된 혈관 평활근을 수축시켰다.
- 5) DIDS로 전 처치된 혈관 평활근에서 vana-

date에 의한 혈관 평활근의 수축은 현저히 억제되었다.

6) Vanadate에 의한 혈관 수축은 verapamil, lanthanum 과 ryanodine의 전 처치에 의해 현저히 억제되었다.

이상의 결과로 보아 vanadate는 가토의 하행성 흉부 대동맥에서 혈관 평활근에 직접 작용하여 혈관 수축을 야기하는데 그 기전으로는  $Na^{+}-K^{+}-ATPase$  억제에 의한것이 아니라 혈관 평활근막을 통한  $Ca^{++}$  유입 및 sarcoplasmic reticulum으로 부터의  $Ca^{++}$ 을 유리시키고 다른 한편으로 혈관 평활근막에 존재하는  $Ca^{++}$ -ATPase를 억제함으로써 세포내 유리  $Ca^{++}$  농도를 증가시켜 혈관 평활근을 수축시킬 것으로 생각된다.

## References

- 1) Rembold CM, Murphy RA : *Myoplasmic* [ $Ca^{++}$ ] determines myosin phosphorylation and isometric stress in agonist stimulated swine arterial smooth muscle. *Cir Res* 63 : 593-603, 1988
- 2) Asida T, Blaustein MP : Regulation of cell calcium and contractility in mammalian arterial smooth muscle : the role of sodium-calcium exchange. *J Physiol* 392 : 617-635, 1987
- 3) Harder DR, Gilbert R, Lombard JH : Vascular muscle cell depolarization and activation in renal arteries on elevation of transmural pressure. *Am J Physiol* 253 : F778-F781, 1987
- 4) Drenth JPH, Nishimura J, Nouailhetas VLA, van Breemen C : Receptor-mediated C-kinase activation contributes to alpha-adrenergic tone in rat mesenteric resistance artery. *J Hypertens*(Suppl 7) : S 41-S45, 1989
- 5) Quayle JM, McCarron J, Halpern W, Nelson MT : Calcium channels and tone in normotensive and hypertensive rat resistance sized arteries (Abstract). *Biophys J* 57 : 3101, 1990
- 6) Sheu SS, Blaustein MP : Sodium/calcium exchange and the regulation of cell calcium and contractility in cardiac muscle, with a note about vascular smooth muscle. In : *The Heart and Cardiovascular System*. ed, Fozzard FA, Haber E, Jennings RB, Katz AM, Morgan HE. New York Raven pp509-535, 1986
- 7) Blaustein MP : Sodium ions, calcium ions, blood

- pressure regulation and hypertension : a reassessment and a hypothesis. *Am J Physiol* 232 : C165-C173, 1977
- 8) Khalil RN, Lodge N, Saida K, van Breemen C : Mechanism of calcium activation in vascular smooth muscle. *J Hypertens* 5(Suppl 4) : S5-S17, 1987
  - 9) Nelson MT, Standen NB, Brayden TE, Worley JF : Noradrenaline contracts arteries by activating voltage-dependent calcium channels. *Nature* 336 : 382-385, 1988
  - 10) Standen NB, Quayle JM, Davies NW, Brayden DJ, Huang Y, Nelson MT : Hyperpolarizing vasodilators activate ATP-sensitive K channels in arterial smooth muscle. *Science* 245 : 177-180, 1989
  - 11) Nelson MT, Huang Y, Brayden JF, Hescheler JK, Standen NB : Arterial dilations in response to calcitonin gene-related peptide involve activation of  $K^+$  channels. *Nature* 344 : 770-773, 1990
  - 12) Beauge LA, Glynn IM : A modifier of  $Na^+/K^+$  ATPase in commercial ATP. *Nature* 268 : 355-356, 1977
  - 13) Hudgins PM, Bond GH :  $(Mg^{++} + K^+) -$  dependent inhibition of  $Na^+, K^+$  ATPase due to a contaminant in equine muscle ATP. *Biochem Biophys Res Commun* 77 : 1023, 1977
  - 14) Cantley JC Jr, Cantley LG, Josephson L : Characterization of vanadate interaction with  $Na^+/K^+$  ATPase. Mechanistic and regulatory implications. *J Biol Chem* 253 : 7361-7368, 1979
  - 15) Simons TJB : Vanadate-a new tool for biologists. *Nature(London)* 281 : 337-338, 1979
  - 16) Jandhyala BS, Hom GJ : Physiological and pharmacological properties of vanadium. *Life Sci* 33 : 1325-1340, 1983
  - 17) Ozaki H, Urakawa N : Effects of vanadate on mechanical responses and  $Na^+ - K^+ -$  pump in vascular smooth muscle. *Eur J Pharmacol* 68 : 339-347, 1980
  - 18) Day H, Middendorf D, Lukert B, Heiz A, Grantham J : The renal response to intravenous vanadate in rats. *J Lab Clin Med* 96 : 382-395, 1980
  - 19) Inciarte DJ, Steffen RP, Dobbins DE, Swindall BT, Johnston J, Harddy FJ : Cardiovascular effects of vanadate in the dog. *Am J Physiol* 239 : H47-H56, 1980
  - 20) Huot S, Muldoon S, Pamnanji M, Clough D, Haddy FJ : Effect of sodium vanadate( $Na_3VO_4$ ) on wall tension and  $Na^+ - K^+$  pump activity in isolated canine saphenous vein(Abstr). *Fed Proc* 38 : 1036, 1979
  - 21) Grover AK, Jones TR, Daniel EE : Effect of vanadate on rat myometrium plasma membrane enzyme activities. *Can J Physiol Pharmacol* 58 : 1247-1250, 1980
  - 22) Searle BM, Higashino H, Khalil F, Bogden JD, Tokushiga A, Tamura H, Kino M, Aviv A : Vanadate effect on the  $Na^+ - K^+ -$ ATPase and the  $Na^+ - K^+$  pump in vitro grown rat vascular smooth muscle cells. *Cir Res* 53 : 186-191, 1983
  - 23) Lauger P : Voltage-dependence of sodium-calcium exchange : predictions from kinetics models. *J Memb Biol* 99 : 1-11, 1987
  - 24) van Breemen C, Aronson P, Loutzedhiser R : Sodium-calcium interaction in mammalian smooth muscle. *Pharmacol Rev* 30 : 167-206, 1979.
  - 25) Wang T, Tasi LI, Solaro RJ, Grassi de Gende AO, Schwartz A : Effect of potassium on vanadate inhibition of sarcoplasmic reticulum  $Ca^{++} -$ ATPase from dog cardiac and rabbit skeletal muscle. *Biochem Biophys Res Commun* 91 : 356-361, 1979
  - 26) Caroni IP, Carafoli E : The  $Ca^{++} -$ pumping ATPase of heart sarcolemma. *J Biol Chem* 256 : 3263-3270, 1981
  - 27) Wibo M, Morel L, Godfraind T : Differentiation of  $Ca^{++} -$ pump linked to plasma membrane and endoplasmic reticulum in the microsomal fraction from intestinal smooth muscle. *Biochim Biophys Acta* 649 : 651-660, 1981
  - 28) Furchgott RF : The requirement for endothelial cells in the relaxation of arteries by acetylcholine and some other vasodilators. *Trends Pharmacol Sci* 2 : 173-176, 1981
  - 29) Furchgott RF, Zawadzki JV, Cherry PD : Vasodilation : In Vanhoutte PM and Laise I, eds. Role of endothelium in the vasodilation responses to acetylcholine. New York Raven Press pp49-66, 1981
  - 30) Rapp JP : Aortic responses to vanadate. Independence from  $(Na^+ - K^+) -$ ATPase and comparison of Dahl salt-sensitive and salt resistant rats. *Hypertension* 3(suppl 1) : I168-I172, 1980
  - 31) Garcia AG, Jurkiewicz A, Jurkiewicz NH : Contra-

- ctile effect of vanadate and other vanadium compound on the rat vas deferens. *Eur J Pharmacol* 77 : 17-23, 1981
- 32) Chung HJ : Effects of vanadate on the contractility of vascular smooth muscle in press, 1989
  - 33) Wu PH, Phillis JW : Effects of vanadate on brain ( $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ )ATPase and p-nitrophenylphosphatase interactions with mono-and divalent ions and with noradrenaline. *Int J Biochem* 10 : 629-635, 1979
  - 34) Coburn RF, Soltoff S :  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$  inhibition stimulates PGE release in guinea pig taenia coli. *Am J Physiol* 232(3) : C191-C195, 1977
  - 35) Katsuragi T, Su C : Release of purines and noradrenaline by ouabain and potassium chloride from vascular adrenergic nerves. *Br J Pharmacol* 77 : 625-629, 1982
  - 36) Bolton TB, Lang RJ, Takewaki TJ : Mechanism of action of noradrenaline and carbachol on smooth muscle of guinea-pig anterior mesenteric artery. *J Physiol* 351 : 549-572, 1984
  - 37) Bond M, Kitazawa T, Somlyo AV : Release and recycling of calcium by the sarcoplasmic reticulum in guinea pig portal vein smooth muscle. *J Physiol* 355 : 677-695, 1984
  - 38) Bean BP, Sturek M, Pugg A, Hermesmeyer K : Calcium channels in muscle cells isolated from rat mesenteric arteries : modulation by dihydropyridine drugs. *Cir Res* 59 : 229-235, 1986
  - 39) Benham CD, Hess P, Tsien RW : Two types of calcium channels in single smooth muscle cells from rabbit ear artery studied with whole-single channel recording. *Cir Res* 61(Suppl 1) : I10-I16, 1987
  - 40) Yatani A, Scidel CL, Allen J, Brown AM : Whole-cell and single channel calcium currents of isolated smooth muscle cells from saphenous vein. *Cir Res* 60 : 523-533, 1987
  - 41) van Breemen C, Saida K : Cellular mechanisms regulating  $[\text{Ca}^{++}]_i$  smooth muscle. *Annu Rev Physiol* 51 : 315-329, 1989
  - 42) Standen NB, Quayle JM, Davies NW, Brayden DJ, Huang Y, Nelson MT : Hyperpolarizing vasodilators activate ATP-sensitive  $\text{K}^+$  channels in arterial smooth muscle. *Science Wash DC* 245 : 177-180, 1989
  - 43) Heinz A, Robinson KA, Grantham JJ : The transport and accumulation of oxyvanadium compounds in human erythrocytes in vitro. *J Lab Clin Med* 100 : 593-612, 1982
  - 44) Rapp JP : Aortic responses to vanadate : independence from  $(\text{Na}, \text{K}) - \text{ATPase}$  and comparison of Dahl salt-sensitive and salt-resistant rats. *Hypertension* 3 : suppl 1 ppI168-I172, 1981
  - 45) Searle BM, Higashino H, Khalil F, Bogden JD, Tokushige A, Tamura H, Kino M, Aviv A : Vanadate effect on the  $\text{Na}, \text{K} - \text{ATPase}$  and  $\text{Na} - \text{K}$  pump in vitro-grown rat vascular smooth muscle cells. *Circulation Res* 53 : 186-191, 1983.